
ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES
SUR LA DYSENTERIE AMIBIENNE
EN COCHINCHINE

PAR LE D^r F. NOC

Médecin-major de 2^e classe des Troupes coloniales

(Avec les planches X, XI, XII, XIII.)

Les caractères cliniques de la dysenterie cochinchinoise répondent régulièrement aux descriptions classiques de la dysenterie amibienne : début brusque après une période de constipation opiniâtre, ou insidieux par poussées successives de diarrhée; expulsion douloureuse de mucosités plus ou moins teintées de sang, d'abord sous forme de crachats sanguinolents, puis en quantité abondante; fréquence des selles, dont le nombre varie de deux à soixante par jour; facilité des rémissions à la suite d'une médication cholagogue et purgative; facilité des rechutes sous l'influence du moindre écart de régime; fréquence des abcès au foie comme complication, même si la dysenterie fut bénigne ou est passée inaperçue.

On distingue ainsi, suivant l'intensité du processus, plusieurs formes cliniques, notamment la rectite dysentérique, la dysenterie chronique proprement dite et la dysenterie hémorragique, dans laquelle les selles sont constituées par des paquets de mucosités entièrement teintées de sang, d'où un affaiblissement rapide du malade.

En Cochinchine, et à Saïgon en particulier, cette dysenterie classique peut revêtir une forme beaucoup plus alarmante,

particulièrement au début de la saison des pluies ou au cours d'une rechute au milieu de la période endémique : cette forme est caractérisée par le nombre considérable des évacuations dès le début de la maladie : les selles sont liquides, fétides, rous-sâtres ou noirâtres et prennent bientôt l'odeur cadavérique; elles renferment des flocons de mucosités volumineux et des débris de muqueuse visibles à l'œil nu. Les selles augmentent de nombre, les forces du malade s'épuisent rapidement, la langue devient saburrale, la température s'élève légèrement, le pouls s'affaiblit; bientôt apparaît le facies péritonéal, les extrémités se refroidissent, la température rectale s'élève à 38°,5, 39° et la mort survient dans le collapsus après quatre ou cinq jours de maladie.

Cette dernière forme est souvent la résultante d'une série de rechutes de dysenterie considérées comme peu graves par les malades qui, ayant conservé leur appétit, persistent dans leur régime ordinaire. Par sa gravité et son insidiosité, elle constitue une des maladies les plus redoutables de l'Extrême-Orient : les médecins lui donnent le nom de *dysenterie gangréneuse* ou, lorsque les phénomènes généraux sont très accentués, celui d'*entéro-colite aiguë*.

La présence des amibes, dans les mucosités des dysentériques de Cochinchine, avait été notée autrefois par Calmette (1), puis par Métin (2), mais, jusqu'à ces dernières années, la véritable signification pathologique de ces protozoaires, dans l'endémie cochinchinoise, avait été méconnue et il faut arriver aux travaux récents de Billet (3), de Lesage (4), de Vincent (5) et de Dopter (6), pour trouver admise la nature amibienne de la plupart des cas de dysenterie d'origine cochinchinoise (1).

Lesage (7), en particulier, en étudiant les mucosités dysentériques, a d'abord signalé la présence d'amibes dont il obtenait assez difficilement, sur gélose lavée, des cultures, considérées primitivement comme appartenant à *Entamoeba histolytica*. Cette spécification n'a pu être confirmée : les petits kystes décrits par Schaudinn (8) chez *E. histolytica*, d'après cinq cas de dysenterie provenant de Chine, d'Egypte et du Siam, et dont aucune illustration n'avait été donnée, semblaient distincts des kystes obtenus dans les premières cultures de Lesage.

(1) Dans quelques cas seulement, peu nombreux, on a pu soupçonner une intervention bacillaire.

Ces essais de culture ont eu du moins l'avantage de montrer la possibilité de cultiver des amibes en partant des mucosités dysentériques *desséchées*, c'est-à-dire contenant vraisemblablement des kystes. Lesage est parvenu à réaliser ses cultures 7 fois sur 30 essais.

Peu de temps après, Brau (9) signalait, dans les eaux d'alimentation de la ville de Saïgon, la présence en grande quantité, à la saison des pluies, d'une amibe qu'il pouvait cultiver par le procédé Musgrave (10) (de Manille) au bouillon peptoné, mais on ne saurait affirmer avec certitude s'il s'agissait d'une amibe offrant les caractères d'*E. histolytica*.

De son côté, Gauducheau (11), au Tonkin, a isolé des matières dysentériques et des eaux une amibe incapable de reproduire la dysenterie chez le singe, mais dont les caractères rappellent beaucoup les amibes cultivées par les savants de Manille.

Dès mon arrivée à Saïgon, en décembre 1905, je reconnus, comme mes prédécesseurs, que les mucosités dysentériques contenaient en grande quantité des amibes de dimensions variables et je notai, en outre, plusieurs fois, que ces amibes étaient susceptibles de s'enkyster *in vitro* en donnant de gros kystes de 7 à 12 μ de diamètre.

Je constatai, d'autre part, que l'eau d'alimentation de la ville se chargeait, à la saison des pluies, d'amibes qui, avec des dimensions souvent plus faibles que les grosses amibes des matières dysentériques, présentaient néanmoins des caractères morphologiques semblables (aspect du protoplasma et du noyau, mobilité) et formaient des kystes de mêmes dimensions.

J'ai relevé également, au cours de ces deux dernières années 1906-1907, des faits épidémiologiques importants semblables à ceux qu'avaient signalés de nombreux médecins, entre autres Bertrand et Fontan (12), puis Brau, Féraud et Saint-Sernin (9), etc., à savoir la coïncidence remarquable de l'apparition des premiers cas de dysenterie et des exacerbations épidémiques de la maladie avec l'arrivée des premières pluies et leurs diverses recrudescences. C'est ainsi qu'en 1906, les premières pluies étant survenues abondamment le 8 avril, de nombreux cas de dysenterie grave se déclarèrent parmi les militaires coloniaux dès la fin du mois et au commencement de mai. En 1907, les pluies ayant été hésitantes au début de la saison, et n'étant devenues véritablement

abondantes qu'au mois de juillet, ce n'est qu'à cette époque qu'on a vu augmenter d'une façon notable le nombre et la gravité des cas de dysenterie, survenus chez les soldats et les marins (1).

Ces circonstances m'ont conduit à poursuivre mes recherches, non seulement sur les amibes des abcès du foie et des mucosités dysentériques, soit sur le vivant, soit après la mort, par le râclage des ulcérations et des parois des abcès, mais encore sur les amibes qu'on observe aisément d'ans l'eau de la nappe saïgonnaise, des arroyos et des puits de diverses localités. Mes observations ont porté à la fois sur des matériaux examinés à l'état frais (pus, mucosités, dépôts recueillis sur les filtres, cultures) et sur du matériel fixé et coloré. Par la méthode de fixation de Schaudinn, au sublimé-alcool acétique (alcool absolu 1, sublimé à saturation 2, acide acétique pur, q.q. gouttes), suivie de la double coloration à l'hématoxyline ferrique-éosine, j'ai pu suivre de près le cycle évolutif de ces amibes, d'origine intestinale ou hépatique et d'origine hydrique. Cette méthode de coloration a été employée aussi, concurremment avec la coloration au Giemsa ou au Laveran, pour l'examen des coupes d'intestin dysentérique, après fixation à l'alcool absolu, à l'alcool-formol, au Flemming ou au sublimé acétique.

I. — AMIBES DES ABCÈS HÉPATIQUES.

Depuis la découverte de Schaudinn (8), établissant l'existence, à côté de l'*Entamoeba coli*, hôte normal de l'intestin de l'homme, d'une deuxième espèce d'amibe propre à la dysenterie des pays chauds, *E. histolytica* (13), dont Jürgens avait déjà fourni une illustration, il semble ressortir des travaux de Musgrave et Clegg (14), de Viereck (15), de Hartmann (18), qu'il existe un nombre plus élevé d'amibes pathogènes, à côté des nombreuses amibes non pathogènes et que le véritable criterium

(1) Il est facile de comprendre que la nappe souterraine se contamine à chaque saison des pluies par les souillures de la surface du sol, surtout abondantes autour des grandes villes, lorsqu'on sait qu'en Cochinchine les eaux, à la période pluvieuse, s'élèvent à quelques centimètres de la surface du sol et que dans ces conditions la couche filtrante de sable est supprimée totalement.

pour délimiter ces espèces pathogènes, reste à décrouvrir, en raison des difficultés de toutes sortes que présente l'étude cytologique et expérimentale de ces protozoaires. D'après Musgrave et Clegg même, toutes sortes d'amibes seraient capables de devenir pathogènes dans certaines conditions. En réalité, nos connaissances sur la nature des amibes qu'on rencontre dans l'organisme humain, sont assez réduites pour qu'on puisse leur appliquer la remarque de Schaudinn, que l'observation du cycle évolutif des protozoaires pathogènes est la première étape de leur étude et doit précéder toute recherche expérimentale.

C'est pourquoi il m'a paru intéressant de prendre comme point de départ de cette étude une amibe isolée d'un abcès au foie sur le vivant, et de rapprocher de ses caractères ceux des diverses amibes qu'on peut rencontrer dans l'intestin des dysentériques ou dans les eaux d'alimentation.

On peut, en effet, trouver dans des abcès du foie, au début, une seule espèce d'amibe en présence de microbes rares ou en l'absence même de toute espèce microbienne et il est difficile, dans ces conditions, de supposer qu'on a rencontré un organisme banal, venu de l'extérieur. Le même protozoaire se retrouvant dans les ulcérations dysentériques, son origine dysentérique et son rôle dysentérique paraissent indiscutables.

Lorsqu'on examine le pus d'un abcès au foie, peu de temps après la ponction sur le vivant, on constate que ce pus renferme des amibes de volume et de mobilité variables. Ces amibes sont d'autant plus nombreuses qu'on se rapproche de la paroi de l'abcès. Dans le sang obtenu avec les ponctions exploratrices, qui ne frappent pas toujours en pleine suppuration, on peut trouver des amibes au milieu des leucocytes et des globules rouges, de sorte que la présence de ces protozoaires, dans le liquide d'une ponction qui, par l'examen à l'œil nu, laisse place au doute, permet généralement d'indiquer si l'on se trouve dans le voisinage immédiat de l'abcès et peut ainsi servir à confirmer le diagnostic et venir en aide à l'opérateur.

On les reconnaît à la réfringence de leur ectoplasme, brillant comme du verre, à leur mobilité particulière, à l'état vacuolaire de l'endoplasme où le noyau n'est pas toujours visible, masqué par de nombreuses granulations; lorsqu'il est apparent, ce noyau est excentrique, arrondi et clair, pourvu d'un gros karyosome

sphérique. Elles mesurent de 7 à 25 μ en moyenne de diamètre. Dans les abcès volumineux, le produit de râclage des parois montre des amibes plus volumineuses, de 20 à 50 μ , plus mobiles, plus vacuolaires. Elles peuvent atteindre jusqu'à 60 μ . Dans ce cas, la chromatine du noyau primitif est extrêmement réduite ou même fait défaut, et le protoplasme est chargé de granulations réfringentes ou chromidies réparties sur les travées protoplasmiques enfermant des corpuscules vacuolaires.

Quelle est la nature de ces corpuscules vacuolaires?

Plusieurs auteurs qui ont étudié les amibes, notamment Craig, Walker, etc., tendent à introduire le terme de « spores » pour désigner ces formations. Ce mot impliquant l'idée d'une résistance, qui n'est nullement apparente chez ces corpuscules, il me semble qu'il est préférable de le remplacer par le terme de bourgeon interne ou de mérozoïte, qui indique le résultat d'une division sans préjuger de la nature de ces corps.

Grâce aux mouvements de l'ectoplasme, ces corpuscules, de 3 à 7 μ de diamètre, s'acheminent vers la périphérie de l'amibe, constituant de nombreux mérozoïtes à grains protoplasmiques extrêmement ténus, entourant un granule chromidial. On peut constater ainsi que la majeure partie de la chromatine nucléaire passe dans l'endoplasme, et certaines amibes constituent de véritables plasmodes formés par la réunion de tous les mérozoïtes, futures amibes-filles accolées encore les unes aux autres (Pl. X, fig. 5, 6, 7).

Dans d'autres cas, la division de l'amibe est binaire et égale. Par suite, les amibes-filles peuvent être de toutes dimensions, depuis les amibes de 3 à 4 μ et de 5 à 7 μ , obtenues par bourgeonnement, jusqu'aux amibes de 30 à 40 μ provenant d'une division binaire ou d'origine plus ancienne.

Je n'ai pu observer l'enkystement de ces amibes du foie disposées sur une lame de verre, car cet enkystement n'est jamais rapide et ne saurait être vu, en quelques heures, sous le microscope.

Mais, par contre, en plaçant du pus d'abcès du foie, prélevé aseptiquement, riche en amibes et accompagné d'une bactérie banale, par exemple de pyocyanique, à la surface d'une boîte de gélose alcaline à 0,5 0/0 à la phénolphtaléine, j'ai constaté qu'un grand nombre d'amibes disparaissaient en 24 heures, par

plasmolyse, en même temps que les bactéries pullulaient, mais que d'autres amibes, 18, 24, 36 heures après l'ensemencement, avaient rétracté leurs pseudopodes et prenaient un contour régulièrement sphérique, en même temps que la partie centrale devenait plus brillante, plus réfringente, par suite de la condensation du protoplasma. Au bout de 36 heures environ, si l'on plaçait entre lame et lamelle un peu du matériel ainsi préparé sur gélose, on pouvait assister à l'épanouissement du contour sphérique de l'amibe et à la constitution d'un kyste de 10 à 12 ou 14 μ de diamètre par *contraction globale* de tout le protozoaire et condensation lente de sa partie périphérique qui présentait bientôt l'aspect brillant du double contour.

Il est donc possible de passer de l'amibe mobile, observée directement dans le pus, à l'amibe des cultures, sans perdre de vue en quelque sorte la première et d'étudier ensuite le cycle évolutif de cette amibe acclimatée à un milieu artificiel.

Les abcès hépatiques, dans lesquels j'ai noté la présence de ces amibes, sont au nombre de douze, soit dix chez des Européens et deux chez des Annamites. Ils se répartissent ainsi au double point de vue de leur degré de développement et de l'origine des amibes :

Liquide de ponction hémato-purulent, sur le vivant.....	4
Pus d'abcès ouvert aseptiquement sur le vivant.....	2
Pus d'abcès évacué par les bronches.....	2
Produit de râclage des parois sur le cadavre.....	4

La culture sur gélose, en présence des bactéries mêlées aux amibes, a été tentée neuf fois : cinq essais avec les produits récoltés sur le vivant n'ont donné qu'un résultat positif; quatre, avec le râclage des parois d'abcès sur le cadavre, ont donné deux résultats positifs.

Dans tous les cas, les amibes des cultures étaient identiques aux jeunes amibes des frottis d'abcès, c'est-à-dire aux amibes de 3 à 25 μ de diamètre, les formes petites prédominant dans ces cultures, en raison de l'arrêt rapide de leur évolution et de leur enkystement précoce. En effet, la rapidité de l'enkystement s'accroît dans les cultures successives que l'on obtient sur la gélose. En trois ou quatre jours, à la température de 25 à 28°, en 48 heures même, à 35-37°, la plupart des amibes d'une

boîte de gélose peuvent être enkystées. Elles n'arrivent pas, par conséquent, au volume énorme des amibes, qu'on observe dans le pus directement et il y a là une différence morphologique qui semble due uniquement à la culture sur des milieux artificiels incomplètement favorables.

Un deuxième fait attire l'attention, il est relatif à la forme et aux dimensions des kystes amibiens des cultures. Ces kystes sont généralement sphériques au début, mais un examen attentif montre que, dans la première culture même, cette sphéricité n'est pas toujours régulière, et que quelques kystes sont plus ou moins ovales ou même triédriques. Si on laisse la culture en repos plusieurs semaines pour la passer ensuite sur une nouvelle gélose, on verra apparaître un grand nombre de formes kystiques polyédriques et à membrane épaisse plus que dans la culture primitive, de sorte qu'on doit se demander si l'on n'a pas ensemencé au début plusieurs espèces d'amibes. On constate, d'autre part, que les dimensions des kystes, dans une même culture, varient de 7 à 12 et à 14 et 16 μ de diamètre. Ces variations de formes et de dimensions s'exagèrent encore lorsqu'on fait plusieurs réensemencements successifs. En réalité, ce polymorphisme n'indique pas la présence de plusieurs espèces amibiennes dans la culture : on peut, en effet, retrouver la même différenciation de formes et de dimensions au bout de plusieurs passages, après avoir pris comme point de départ un kyste unique, sphérique ou polygonal.

Pour isoler un seul kyste, j'emploie la technique suivante : un tube de gélose sans peptone reçoit au préalable une strie au fil de platine d'une émulsion microbienne pure (*B. coli*, pyocyanique, *B. subtilis*, etc., les amibes s'accommodent d'une espèce quelconque). Ce tube est prêt pour l'ensemencement du kyste. Sur une lame de verre flambée, on dépose avec une pince fine une petite lamelle ronde flambée, susceptible de glisser rapidement au fond du tube de gélose. On prépare une émulsion de la culture amibienne enkystée qui va servir à l'isolement ; avec une pipette effilée, on dépose sur la lamelle une gouttelette extrêmement petite de l'émulsion, on en parcourt rapidement l'étendue avec un objectif faible. On s'assure ainsi de la présence d'un ou de plusieurs kystes dans la gouttelette tenue. On recommence l'opération jusqu'à ce qu'il n'apparaisse qu'un seul kyste

dans une gouttelette d'émulsion. Ce résultat obtenu, on saisit la lamelle avec la pince flambée et on la fait glisser rapidement au fond de la gélose inclinée. Avec l'eau de condensation, on étale les microbes et le kyste à la surface du milieu et on laisse en position inclinée, à la température ordinaire (22-25°). Sur une douzaine de tubes ainsi préparés, on constatera, au bout de huit à dix jours, que deux ou trois d'entre eux ont fourni une culture riche en amibes enkystées ayant un kyste unique pour origine. Ces amibes enkystées présentent des dimensions variables et répondent soit au type sphérique soit au type polygonal, mais déjà quelques-unes s'éloignent de l'un de ces types et au bout de 2 à 3 réensemencements, on peut observer les deux formes avec des dimensions variables dans un même tube.

Malgré ce polymorphisme apparent, toutes les amibes que j'ai étudiées, provenant du foie, ont montré un cycle évolutif identique. Le kyste de 10 à 12 μ en moyenne, muni d'un noyau entouré de fines granulations (Pl. X, fig. 26, 28), est capable de donner naissance à une amibe unique dès que les conditions de milieu seront favorables (humidité, température, changement de réaction chimique). En effet, le processus de division nucléaire est le même que l'amibe soit enkystée ou non : expulsion de granules chromidiaux à travers la membrane nucléaire dans l'endoplasme où ils constituent les noyaux des bourgeons protoplasmiques internes, futures amibes-filles. Ce processus est identique à celui qui a été observé chez *E. histolytica* Schaudinn. La division peut se produire à l'intérieur du kyste et l'on a ainsi des kystes à deux noyaux, ou à noyaux multiples (Pl. X, fig. 25, 26). Si à ce moment, on modifie la température (examen du kyste en chambre chaude), on peut assister au ramollissement de la paroi et à la mobilisation d'une amibe qui laisse parfois, après elle, une mince défroque ectoplasmique. Cette amibe unique est généralement bourrée de chromidies et de sa périphérie se détachent bientôt de fins bourgeons protoplasmiques munis d'un grain de chromatine (fig. 16, 17, 22, 23, 27, 29). Ces bourgeons, de 3 à 5 μ de diamètre, ont quelquefois la forme sphérique et leur contour est plus ou moins accentué, mais, en aucun cas, je ne les ai vus prendre un double contour net, comme le signale Schaudinn pour les spores d'*E. histolytica*. Généralement, le bourgeon protoplasmique, aussitôt libéré par étranglement,

se mobilise, d'abord très faiblement, par une imperceptible contraction du protoplasma, puis on voit apparaître un mince liseré d'ectoplasme. La jeune amibe (fig. 18, 19, 20) ainsi constituée a de 3 à 4 μ de diamètre. Son protoplasma est extrêmement fin, on ne distingue d'abord du noyau que la chromatine, puis ce noyau devient vésiculeux, se gonfle, tandis que la chromatine grossit à mesure que l'amibe augmente de volume.

Le bourgeonnement est rapide : en six à sept heures, à 37°, on peut obtenir, avec quelques kystes, des cultures d'amibes se reproduisant par bourgeonnement; quelques-unes d'entre elles se divisent en deux amibes égales ou inégales. Mais que la division soit binaire ou par bourgeonnement, les phénomènes préparatoires qui se passent du côté du noyau se rapportent généralement à la division amitotique, sans rupture de la membrane nucléaire. J'ai observé deux types principaux de division amitotique :

1° La masse caryosomique se gonfle et s'étale à la périphérie du noyau, son centre s'éclaircit; il se forme ainsi un cercle endonucléaire de chromatine qui commence à se disloquer en petits segments de forme irrégulière ou arrondie;

2° Le caryosome s'égrène sous forme de fines chromidies qui passent une à une à travers la membrane nucléaire et se répandent dans l'endoplasme. On n'observe qu'un très petit nombre d'amibes, dont la chromatine nucléaire a entièrement disparu pour constituer un fin réseau chromidial endoplasmique. Généralement, il y a un reste caryosomique central dans le noyau, ce qui semble tenir à un arrêt de développement, car dans les amibes observées directement dans le pus, on en voit un plus grand nombre dont toute la chromatine centrale a disparu comme dans le cas d'*E. histolytica*. Les figures qui déterminent ces deux modes de division du noyau sont très variées. Des figures identiques se retrouvent fréquemment dans les frottis d'abcès du foie ou de selles dysentériques colorées à l'hématoxyline ferrique (Pl. X, fig. 9 et 10) et nous verrons également des processus identiques de division chez l'amibe commune de l'eau de Saïgon.

On observe encore la division nucléaire en « biscuit », par étranglement du noyau, suivie de la scission du protoplasma et aboutissant à la formation de deux amibes-filles. Mais l'un des noyaux secondaires peut se diviser à son tour avant sa sépa-

ration, suivant l'un des types 1° et 2° en plusieurs petits noyaux.

J'ai pu observer également quelques formes de division rappelant des figures karyokinétiques. Il se forme, dans ce cas, un véritable fuseau nucléaire avec deux calottes chromatiques et plusieurs grains de chromatine disséminées autour de l'équateur. Hartmann (18) a signalé des figures semblables, de même que la division par centrosome interne (centriole) chez *Entamoeba tetragena*, amibe pathogène découverte par Viereck (15) dans des cas de dysenterie provenant d'Afrique et de l'Amérique du Sud. Mais tous ces types de division nucléaire ne paraissent pas suffisants à eux seuls pour caractériser une seule espèce amibienne.

Le grand nombre de chromidies émises par un noyau à gros karyosome explique combien, dans certains cas, peut être rapide la multiplication des amibes et capable de produire des lésions plus graves qu'une simple multiplication bactérienne; les jeunes amibes, issues des mérozoïtes, croissent, en effet, rapidement, et dès leur jeune âge peuvent subir la division nucléaire et donner de précoces bourgeons (Pl. X, fig. 29).

Les amibes des cultures n'atteignent généralement pas les grandes dimensions qu'on note chez les amibes du pus; cependant, on peut voir des formes de 30 à 40 μ de diamètre lorsqu'on renouvelle fréquemment les cultures sur gélose. En laissant de longs intervalles de repos, au contraire, entre les passages, on arrive à avoir des amibes de plus en plus petites et dont le pouvoir reproducteur est affaibli. Parallèlement, ces cultures semblent dénuées rapidement de tout pouvoir pathogène. Un grand nombre des amibes, soit du pus, soit des cultures, sont d'ailleurs frappées de dégénérescence: on constate souvent qu'elles renferment de grosses masses de chromatine provenant de la fragmentation du noyau et qui donnent l'impression de figures de dégénérescence; elles sont d'autant plus nombreuses que les cultures sont plus anciennes; on les rencontre à côté de kystes plasmolysés et vides, elles s'observent également sur du matériel recueilli depuis plusieurs heures et sur des amibes déjà immobilisées. Ces grosses masses qu'on pourrait confondre avec des spores ne présentent pas, comme celles-ci, de résistance aux colorants et se laissent imprégner facilement par l'hématoxyline (Pl. X, fig. 24).

On peut noter également sur les amibes des cultures la présence d'une vacuole pulsatile (qui se voit rarement dans les amibes du pus ou des mucosités), mais toutes les amibes d'une même culture ne la possèdent pas. Cette vacuole bat environ une fois toutes les 40 secondes chez les amibes provenant de la gélose et observées à la température de 28° environ.

En résumé, j'ai pu isoler des abcès du foie, en Cochinchine, une amibe se rapportant à un type prélevé sur le vivant dans la paroi de l'abcès et dont les caractères cytologiques, très voisins de ceux d'*E. histolytica*, s'en différencient néanmoins par la richesse en chromatine nucléaire et par l'existence de gros kystes polymorphes de 7 à 16 μ de diamètre. Cette amibe peut être cultivée sur la « gélose de Mouton » légèrement alcalinisée. Les observations qui suivent montrent que j'ai retrouvé la même espèce amibienne dans les selles et les ulcérations dysentériques et dans l'eau d'alimentation de la ville de Saïgon.

1111111111

II. — AMIBES DES SELLES DYSENTÉRIQUES.

A l'examen microscopique des matières fécales d'un Européen vivant dans de mauvaises conditions d'hygiène en Cochinchine, c'est-à-dire buvant une eau souillée et mangeant des légumes crus, on reconnaît fréquemment, parmi les fibres musculaires imparfaitement digérées et les débris végétaux, des œufs de Lombric, de Trichocéphale, des kystes de *Trichomonas* et de *Lambliia intestinalis*, mais on note surtout la présence d'une grande quantité de kystes sphériques à double contour, ayant de 7 à 12 μ de diamètre en moyenne et contenant de nombreux grains de chromatine plus ou moins distincts. (Pl. XI, fig. 2, 11, 12.)

Lorsque ces kystes sont nombreux, il n'est pas rare d'observer que les porteurs présentent, masquées dans leurs matières fécales, quelques mucosités où l'on peut découvrir des amibes mobiles, à ectoplasme très réfringent, à gros karyosome, identiques à celles qu'on observe dans les abcès du foie.

L'état normal pour l'intestin de l'Européen semble être peu

commun dans cette contrée : il est fréquent, en effet, de voir ces porteurs de kystes considérés comme sains présenter peu de jours après l'examen, des symptômes nets de dysenterie. Beaucoup de militaires coloniaux conservent d'ailleurs pendant des mois des poussées intermittentes de rectite pour lesquelles ils ne réclament aucun soin : ce sont des porteurs d'amibes dont le milieu intestinal continue à s'enrichir de kystes tous les jours et chez lesquels peut éclater soudainement une dysenterie très grave. Les selles de ces Européens ont généralement une réaction neutre ou même alcaline au papier de tournesol.

L'examen des matières fécales des Annamites donne des résultats un peu différents : les selles sont jaune clair, de réaction acide; néanmoins, on y découvre des points alcalins ou neutres et quelquefois des amas de mucosités contenant des amibes peu mobiles; les mucosités sont rarement teintées de sang. Dans le bol fécal, on découvre aussi les kystes de divers protozoaires (*Trichomonas*, *Lamblia*, *Entamæba coli*), mais surtout des kystes amibiens de 7 à 12 μ de diamètre dont l'intérieur est souvent vidé par plasmolyse de ses granulations.

Dans les mucosités qu'expulsent les malades atteints de dysenterie à tous les degrés, on note la présence d'amibes en quantité très élevée. Leur volume varie de 3 à 60 μ , comme celui des amibes hépatiques, et des variations semblables se retrouvent dans les cultures obtenues avec ces amibes. Les plus petites s'observent surtout dans les selles séro-sanguinolentes et putrides de l'entéro-colite, les plus volumineuses dans les formes hémorrhagiques. Les amibes moyennes, de 20 à 30 μ , se voient surtout dans les simples rectites à mucosités blanchâtres, légèrement teintées de sang. Mais ce polymorphisme paraît en rapport avec la viscosité du milieu et la tension superficielle et toutes les dimensions peuvent se rencontrer sur une préparation dans toutes les formes de dysenterie (Pl. X, fig. 1). Par leur aspect, la constitution de l'endoplasme, l'apparence du noyau, ces amibes sont identiques à celles que j'ai observées dans les cultures d'origine hépatique. Elles renferment souvent plusieurs globules rouges (Pl. XI, fig. 2, 4, 5, 6, 7 et 8). Généralement pourvues d'un noyau excentrique, clair, à gros caryosome, elles diffèrent sur ce point des amibes décrites par Schaudinn et figurées par Jürgens comme *E. histolytica*. Le stade adulte de l'amibe

est un stade à gros karyosome; ce n'est qu'au moment de la division nucléaire, lorsque l'endoplasme se remplit de fines granulations issues d'un noyau primitif, qu'on observe dans ce noyau une fine bande de chromatine périphérique et un petit reste karyosomique central.

La grande mobilité de ces amibes qui coulent « comme de l'huile à la surface du porte-objet » (Pl. XI, fig. 2, 5,) la réfringence de leur ectoplasme, l'apparence de leur noyau, permettent déjà de les différencier d'*Ent. coli* décrite par Casagrandi et Barbagallo (19) en 1897, puis par Schaudinn en 1903. Par leur mode de reproduction, elles se rapprochent à la fois d'*E. histolytica* et d'*Entamoeba tetragena* Viereck, mais s'en différencient notablement par la constitution de leur kyste.

Bourgeonnement de l'amibe cochinchinoise. — La reproduction se fait soit par division binaire égale ou inégale après étranglement du noyau (v. Amibes du foie), soit surtout par la mise en liberté dans l'endoplasme d'un grand nombre de grains chromidiaux provenant de la fragmentation de la chromatine nucléaire. Ces grains sont contenus dans des masses sphériques qui, par le nombre, constituent de véritables inérozotes se rapprochant de la périphérie de l'amibe, sont expulsées sous forme de bourgeon protoplasmique muni d'un petit noyau (Pl. XI, fig. 2, 8). Ce bourgeonnement n'est pas complètement assimilable à celui qu'a décrit Schaudinn chez *E. histolytica*. Chez cette dernière, le bourgeonnement n'est qu'une phase de la sporulation et se continue par l'émission à la périphérie de l'amibe de petits kystes de 3 à 7 μ de diamètre. « Peu à peu, dit Schaudinn, en 2 à 3 heures, sous l'influence des courants actifs de l'endoplasme, plusieurs petits bourgeons sont expulsés, arrivant à la périphérie de l'amibe et s'éliminant finalement comme des sphères à structure concentrique, de 3 à 7 μ de diamètre ». Je n'ai pu considérer comme de véritables kystes les bourgeons reproductifs de l'amibe dysentérique de Saigon. A l'examen de nombreuses selles dysentériques, à toutes les périodes de la maladie, j'ai seulement constaté l'émission de petites amibes de 3 à 7 μ capables de se transformer en amibes adultes, sans passer par un stade de kyste à double paroi.

Il faut admettre d'ailleurs qu'il règne encore à l'heure actuelle une certaine obscurité sur les caractères d'*E. histolytica*, après

la description de Schaudinn, dont il reconnaissait lui-même les lacunes et jusqu'ici aucun travail n'a pu confirmer pleinement les observations de ce zoologiste.

Les premiers kystes décrits par Musgrave et Clegg (10) chez les amibes dysentériques de Manille, ensuite par Lesage (17) chez les amibes de Cochinchine, ne pouvaient être attribués à *E. histolytica*. Ces kystes mesurent, en effet, de 10 à 12 μ de diamètre en moyenne; aucun de ces auteurs n'a vu les petits kystes obtenus à la périphérie selon le mode Schaudinn. En 1907, Lesage (26) a observé sur de nouvelles cultures, d'origine hépatique, des amibes qui, parvenues au stade *immobile*, possèdent à la périphérie de petits grains brillants de 1, 2 et 3 μ de diamètre. Il ne saurait être question encore ici des formations décrites par Schaudinn (3 à 7 μ), mais plutôt de grains de chromatine expulsés par dégénérescence des amibes comme cela se présente fréquemment avec les amibes ou avec les leucocytes et d'autres cellules au moment de leur mort.

Craig (20) a essayé également de retrouver les stades décrits par Schaudinn chez l'amibe de la dysenterie tropicale. Il a vu et décrit avec précision la formation des spores dans l'endoplasme et figuré le bourgeonnement de l'amibe tel qu'on l'observe après coloration au bleu de méthylène-éosine-alcaline (méthode de Wright modifiée). Malheureusement, les spores, libres dans les selles, figurées avec la teinte de la bile et qu'il n'a pu colorer par la méthode de Wright, ne répondent pas par une filiation indubitable aux bourgeons sporaux encore adhérents à l'amibe et colorés.

Walker (17), dans une série de recherches sur les cultures d'amibes parasites, a étudié une amibe provenant de matières dysentériques de Manille; il a vu lui aussi l'apparition de bourgeons ou de « spores » dans l'endoplasme, mais il repousse les conclusions de Schaudinn quant à l'émission de bourgeons se transformant en kystes.

Enkystement de l'amibe dysentérique. — En ce qui concerne l'amibe dysentérique cochinchinoise soit en examinant les mucosités aussitôt après leur émission, soit en laissant dessécher selon la méthode de Schaudinn sur lamelles et en colorant ensuite 10 minutes, 30, 60 minutes, 2 à 3 heures après, soit en laissant

dessécher lentement en couche épaisse au-dessus de l'acide sulfurique, soit en desséchant rapidement dans le vide des fragments d'intestin ulcéré contenant des amibes dans l'intimité des tissus, je n'ai pu obtenir l'apparition sur les frottis ou sur les coupes de petits kystes de 3 à 7 μ , mais toujours un des trois résultats suivants :

1^o Ou la dégénérescence granulo-graisseuse de l'amibe comme celle des leucocytes toutes les fois que ces cellules sont abandonnées à l'air libre. Dans ce cas, on voit les grains de chromatine se gonfler et venir à la périphérie de l'amibe, lui formant comme une couronne; mais tout caractère de kyste manque à ces masses chromatiques et la coloration par le Giemsa ou par l'hématoxyline ferrique ne permet de déceler aucune structure dans ces formations dont le nombre est d'autant plus considérable qu'on s'adresse à du matériel plus altéré au moment de la dessiccation;

2^o Ou la contraction en masse du protoplasma amibien, sans double contour et sans dégénérescence (dessiccation trop rapide);

3^o Ou enfin l'enkystement total de l'amibe qui conserve à son intérieur la chromatine à l'état de granulations et présente une membrane épaisse, à double contour. Ces kystes, dont la structure est facile à voir, mesurent 7 μ , 7 μ 5, 9 μ , 10 μ , 12 μ , et plus rarement, 14 μ , de diamètre. Ils s'obtiennent assez difficilement par dessiccation lente, mais on les voit apparaître en nombre considérable dans les selles des dysentériques en voie de guérison ou dans les diarrhées à forme bilieuse qui précèdent l'éclosion de la dysenterie. Ils y sont souvent teintés en jaune par les pigments biliaires: régulièrement sphériques, ils roulent entre lame et lamelle comme des boules de tapioca dans le liquide et laissent voir par transparence les spores vacuolaires qui, munies d'une petite masse de chromatine, constitueront les bourgeons de l'amibe à son éclosion. On voit plus facilement la structure des kystes en diluant les matières avec une solution faible de rouge neutre. Je n'ai pas poursuivi l'étude détaillée des modifications qui se passent à l'intérieur des kystes, où se produisent probablement des phénomènes de réduction nucléaire, mais j'ai noté que l'amibe, issue de chaque kyste, peut posséder de 20 à 30 mérozoïtes, futurs bourgeons et futures amibes-filles,

d'où la rapidité d'aggravation de certaines dysenteries à selles séro-sanguinolentes. Dans ces cas, les selles sont constituées par un véritable bouillon de culture au plasma où flottent des myriades de petites amibes ténues, de 3 à 8 μ de diamètre; dans ces selles on observe rarement des kystes (Pl. X, fig. 1). Au contraire, lorsque les selles sont formées de glaires épaisses, peu sanglantes, on verra des amibes, de 15 à 30 μ , plus ou moins mobiles, dont la chromatine se divise plus lentement, sans tendance bien nette à la scision de l'endoplasme. La division binaire est alors un type fréquent de division et l'on voit aussi se former les gros kystes de 7 à 12 μ par épaissement des parties périphériques de l'amibe (Pl. XI, diagramme 1).

Ces kystes, de 7 à 12 μ , qui atteignent parfois 14 et 16 μ , identiques aux kystes obtenus dans les cultures d'abcès hépatiques, sont bien les kystes de l'amibe dysentérique. On les voit apparaître en grand nombre dans les matières fécales, lorsque survient la période de guérison et que le nombre des amibes mobiles diminue. Même lorsque les malades sont considérés comme guéris (selles moulées, de couleur claire, exemptes de mucosités, plus d'épreintes), leurs matières contiennent de nombreux kystes. Il arrive souvent que ces malades rentrent à l'hôpital au bout de quelques jours pour une rechute qui est généralement grave (jusqu'à 20 à 30 selles d'emblée par jour). La formation des kystes a donc été un élément favorable à la multiplication des amibes. La richesse en chromidies, germes de nouvelles amibes, dans l'amibe issue du kyste, explique cette rapidité des rechutes et leur gravité. Il s'ensuit que l'on ne doit considérer un malade comme guéri de sa dysenterie que si son tube intestinal ne renferme plus de kystes amibiens et que les rémissions plus ou moins longues, provoquées par toute médication évacuante ou antiseptique, ne doivent pas être considérées comme des guérisons avant un examen minutieux des matières fécales.

Avec les amibes des mucosités, comme avec les amibes du pus hépatique, on n'observe pas un enkystement rapide *in vitro*. Il faut que l'amibe ait passé par un stade de repos avant de s'enkyster. A cette condition, on obtient des cultures des amibes dysentériques, bien qu'avec difficulté.

J'ai retrouvé l'amibe dysentérique dans 108 cas de dysen-

terie, dont 100 chez l'Européen et 8 chez, l'indigène quelle que fût la gravité de la forme clinique. Les kystes d'amibes de 7 à 12 μ ont été vus également chez un grand nombre d'indigènes sains, diarrhéiques ou ankylostomiasiques. Chez 50 soldats n'ayant jamais eu de dysenterie, mais dont plusieurs sont devenus malades ultérieurement, ces kystes ont été retrouvés avec les mêmes dimensions. Ils existaient également chez les Européens atteints de diarrhée acide. Les kystes volumineux à huit noyaux d'*Ent. coli* n'ont été vus que dans quelques cas de diarrhée.

La culture sur gélose sans peptone, alcaline à 0,5 0/0 à la phénolphthaléine ou neutre, a été obtenue *cinq* fois seulement sur 37 essais avec les mucosités dysentériques ou les selles séro-sanguinolentes desséchées au préalable.

Dans un cas de dysenterie chronique, où les mucosités, riches en amibes, étaient assez pauvres en bactéries, je constatais la présence des kystes dans les matières fécales et les mucosités. Une parcelle de ce matériel ayant été placée dans un petit flacon d'Erlenmeyer, avec 50 c. c. d'eau distillée stérilisée, je notai, 24 heures après, que les amibes gisant au fond du vase avaient pris la forme arrondie et que plusieurs étaient sur le point de s'enkyster. J'ai pu conserver ce liquide, riche en kystes, dont l'origine dysentérique n'était pas douteuse et en obtenir, à plusieurs reprises, des cultures sur gélose toutes semblables à celles que j'ai retirées des abcès du foie.

III. — AMIBES DES EAUX DE COCHINCHINE.

La fréquence avec laquelle on constate l'amibe que je viens de décrire dans les matières fécales, en Cochinchine, permet de se demander si elle est bien une *Entamæba* et si elle n'est pas également commune dans le milieu extérieur. J'ai observé, en effet, soit à l'état mobile, soit à l'état de kyste, une amibe identique aux amibes des cultures dysentériques et hépatiques sur le dépôt des filtres placés sur la canalisation d'eau, et aussi dans le dépôt obtenu avec les eaux de lavage des salades employées tous les jours dans l'alimentation.

La culture des amibes de l'eau s'obtient avec plus de facilité

que celle des amibes intestinales qui est entravée par la prolifération microbienne, abondante à la surface de la gélose (1). Malgré cette différence, les caractères de l'amibe commune des eaux de Cochinchine se sont toujours montrés identiques à ceux des cultures d'origine hépatique, et c'est là un point important en faveur de l'origine hydrique de la dysenterie et de l'hépatite des pays chauds. Cette amibe présente de grandes ressemblances avec les amibes cultivées par Musgrave et Clegg en partant de l'eau ou de l'intestin, par Lesage, des mucosités dysentériques, par Gauducheau, de l'eau ou des mucosités. (Il existe, d'ailleurs, plusieurs espèces amibiennes dans les eaux de Cochinchine : sur un milieu faiblement acide, j'ai pu isoler une deuxième espèce à gros kystes, à ectoplasme peu différencié, à pseudopodes lents et épineux et qui s'éloigne par conséquent beaucoup des caractères de l'amibe commune à l'eau et à l'intestin dysentérique.

Voici l'origine des cultures de cette dernière, obtenues en partant de l'eau :

LOCALITÉS	ORIGINE DE L'EAU	ÉCHANTILLONS examinés.
Ville de Saigon	Eau d'alimentation (canalisation).	Très nombreux.
— —	— — (puits de la ville).	4
— —	Eau des puits de l'Institut Pasteur.	2
Gocoug (Cochinchine).....	Eau d'alimentation (puits).	2
Cap Saint-Jacques	— — —	2
Bangkok (Siam).....	— — —	1
Bania (Cochinchine).....	— — (arroyo).	3
Cantho —	— — —	2
Binh-Duc —	— — (source).	2
Navire de guerre (eau distillée rafraîchie avec de la glace provenant de Saigon).....	— — (charnier).	2

(1) On laisse solidifier la gélose alcaline à 1 p. 100 en position horizontale dans des flacons d'Erlenmeyer ou des boîtes de Roux. On redresse les flacons dans lesquels on verse 100 ou 200 c. c. d'eau à analyser. On additionne chacun des 100 c. c. de 1 c. c. de bouillon peptoné alcalin à 1 p. 100 à la phénolphtaléine. Les amibes apparaissent en 2 à 3 jours à 28-30° et rampent à la surface de la gélose.

La répartition de cette amibe, dans le milieu extérieur, paraît donc très étendue; cette extension est d'ailleurs en rapport avec la facilité avec laquelle on contracte la dysenterie ou les abcès du foie dans ces régions. En ce qui concerne Saïgon et les variations de la souillure de la nappe souterraine suivant la saison, voici les résultats des examens de l'eau des puits et de la canalisation, faits tous les mois en vue de la recherche des kystes amibiens, soit par l'examen direct des dépôts sur les filtres soit par la méthode des cultures :

MOIS	PUITS exposés aux souillures.	CANALISATION URBAINE
Janvier.....	Kystes d'amibes rares.	Pas d'amibes.
Février	Kystes plus rares.	0
Mars	0	0
Avril.....	0	0
Mai ... \ Période	Présence des kystes.	Kystes et amibes mobiles
Juin... } d'exacerbation	Kystes nombreux.	à l'examen direct.
Juillet. } de	—	Abondante cult. d'amibes.
Août.. } l'endémie	—	—
3 sept... / dysentérique.	—	—
Octobre	Kystes moins nombreux.	—
Novembre	Kystes rares.	Kystes rares, pas de culture.
Décembre	—	0

Les amibes et les kystes ainsi observés dans l'eau pendant toute l'année étaient accompagnés d'une flore microbienne riche, où dominent le pyocyanique, le *Bacillus subtilis*, le staphylocoque et plusieurs microbes chromogènes, et d'une faune de flagellés et d'infusoires ciliés, mais à chaque période d'examen, les images fournies par l'examen à l'état frais, ou par les frottis colorés à l'hématoxyline ferrique, ont reproduit les figures de division nucléaire et d'enkystement observées avec l'amibe isolée des abcès du foie. Il suffit de se reporter à la planche XIII pour noter la présence chez ces amibes d'un gros karyosome,

la division nucléaire, soit en « biscuit », soit par émiettement de la chromatine, sous des aspects variables, la formation de mérozoïtes et le bourgeonnement, l'association de la division binaire et de la division par bourgeonnement, l'enkystement total de l'amibe et le division du noyau sous un kyste en un grand nombre de chromidies. On retrouve également chez cette amibe les figures de division pseudo-karyokinétique déjà vues chez les amibes des abcès au foie. Il y a donc, au point de vue cytologique, identité entre les deux protozoaires vus dans la paroi de l'abcès et dans le milieu extérieur. Il en est de même entre ces amibes et celles qu'on observe dans l'épaisseur des parois intestinales chez les sujets morts de dysenterie.

IV. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES.

La spécificité des amibes retirées, par les cultures, de l'intestin des dysentériques, trouve une preuve dans la présence d'amibes identiques par leur morphologie, leur division nucléaire, leur bourgeonnement périphérique, dans la profondeur de la muqueuse intestinale, non seulement au milieu des glandes réduites en bouillie, mais aussi dans l'épaisseur de la tunique musculaire, au milieu des points de nécrose, où fait défaut toute association microbienne décelable par les colorants. On trouve là des amibes de toutes dimensions, comme dans les selles, avec la même puissance reproductrice, et leur abondance est en rapport avec une teinte lavée des tissus qui gardent mal les colorants (Pl. XII, fig. 1, 2, 3, 4).

La pénétration des amibes dans les différentes couches de l'intestin chez l'homme, l'effraction des capillaires, l'envahissement du foie par la circulation-porte, sont en somme des faits indiscutables, mais dont les conditions sont encore peu approfondies. On a essayé, de divers côtés, de réaliser chez l'animal semblable pénétration avec des résultats variables. Les premières tentatives ont été faites, soit avec les mucosités dysentériques, soit avec le pus des abcès du foie. Loesch (21), Hlava (22), Kruse et Pasquale (23), Marchoux (24), Jürgens (13), Schaudinn (8), Harris (25), Craig (20), entre autres, obtinrent des résultats positifs dans la majorité des cas. Les tentatives faites avec les

cultures n'ont pas donné les mêmes succès. Kartulis, le premier, avec une infusion de paille stérilisée et alcaline, cultivait des amibes du foie entre 36 et 38° : ces cultures, injectées dans le rectum des chats, provoquaient la diarrhée, avec érosions, mais sans ulcération bien caractérisée. Musgrave et Clegg (10) n'ont pas obtenu *chez le jeune chat* d'ulcération caractéristique avec les cultures isolées des matières dysentériques à Manille. Lesage (7), avec les cultures dysentériques d'origine saïgonnaise, n'a pas vu se produire une véritable dysenterie chez le jeune chat, mais une sorte d'entérite aiguë. Je n'ai pas obtenu de meilleurs résultats, en essayant de reproduire la dysenterie chez le jeune chat et le macaque, soit au moyen des cultures d'origine hydrique soit avec les cultures d'origine intestinale. Toutes les expériences suivantes ont donné des résultats négatifs.

	Par la bouche	Par le rectum
Macaques.....	2	3
Jeunes chats.....	16	8
Totaux.....	18	11

Les cultures, dans ces 29 expériences, étaient trois fois d'origine dysentérique, et vingt-six fois d'origine hydrique. Chez les jeunes chats, l'injection fut rejetée un grand nombre de fois; les cultures riches en kystes étaient râclées tous les jours et ingérées avec les aliments.

Le pyocyanique, considéré autrefois comme agent dysentérique, étant extrêmement répandu à Saïgon (on peut l'isoler avec facilité de tous les échantillons d'eaux et de l'intestin des individus sains ou malades), on pouvait l'accuser de jouer un rôle dans la production de la dysenterie humaine, soit comme agent irritant pour la muqueuse ou favorisant pour la culture d'amibes. Aussi, dans neuf des expériences précédentes, ai-je fait accompagner l'injection de cultures d'amibes de l'injection répétée de cultures de pyocyanique en bouillon. Il se produisit, chez quelques animaux, de la diarrhée, mais celle-ci ne fut pas suivie d'une véritable dysenterie avec prolifération d'amibes mobiles dans l'intestin. Les kystes parvenaient d'ailleurs dans le rectum et se retrouvaient nombreux dans les selles, mais beaucoup étaient plasmolysés et les matières diarrhéiques contenaient des cadavres d'amibes ayant perdu leur mobilité.

Quelques expériences furent faites parallèlement et sans succès avec des mucosités dysentériques renfermant des amibes vivantes; aussi ai-je cherché s'il ne fallait pas trouver dans la réaction du milieu intestinal de ces animaux la véritable cause de leur résistance à l'infection amibienne. Dans tous les cas, en effet, les matières fécales des chats et des macaques étaient de réaction acide et cette acidité ne disparaissait pas, même après l'injection répétée dans le rectum de cultures de pyocyanique, même après une alimentation exclusivement composée de viande bouillie et de cultures en bouillon de pyocyanique. L'acidité du contenu du gros intestin est restée toujours nette au papier de tournesol et, à l'autopsie des animaux, j'ai constaté que l'acidité du contenu stomacal, qui est très élevée, se poursuit, bien que diminuée, dans toutes les portions du tube digestif et sur tout le parcours du chyme jusqu'au rectum. Les macaques, accoutumés à une nourriture végétarienne, n'ont pu s'habituer à l'alimentation carnée. Leurs matières fécales donnaient également une réaction acide au tournesol. L'importance de la réaction du milieu, vis-à-vis de l'infection par les amibes, semble d'ailleurs mériter l'attention par le fait que les cultures d'amibes, d'origine hydrique ou intestinale, sont compatibles avec une alcalinité très élevée, jusqu'à une alcalinité de 8 0/0 en soude à la phénolphthaléine et peuvent s'accoutumer à de faibles quantités d'acide, mais subissent un arrêt lorsque l'acidité atteint 0,3 0/0 à la phénolphthaléine en acide oxalique. Il est à rappeler également que, chez les Chinois et les Annamites, dont les matières fécales sont fréquemment acides, les amibes dysentériques se multiplient avec moins de facilité que chez les Européens. Peut être le rôle de la flore intestinale ne doit-il pas être laissé de côté dans l'étude de la dysenterie amibienne.

Dysenterie chez le macaque. — Chez cet animal, on trouve les kystes de 10 à 12 μ de l'eau de Saïgon dans les matières fécales, au bout de plusieurs jours d'observations, mais en aucun cas je n'ai vu apparaître de dysenterie de nature purement amibienne. La dysenterie n'est pas rare chez les macaques, mais une observation complète de leur tube digestif permet de ne pas se méprendre sur la nature de cette dysenterie, à laquelle ils succombent fréquemment. Leurs selles deviennent, dans certains cas, nettement sanguinolentes et le passage des matières alimentaires

s'arrête au cœcum par suite de la contracture du gros intestin ulcéré; les mucosités sanglantes ou mucopurulentes contiennent même des amibes qui se développent dans ce milieu riche en globules rouges et en sérosité; quelques-unes de ces amibes peuvent se retrouver dans la profondeur des glandes sur les coupes; mais la véritable cause de la dysenterie n'est pas amibienne. La plupart des macaques de Cochinchine sont, en effet, porteurs d'un parasite dangereux qui est l'*Œsophagostome*. Cet helminthe dont le rôle pathogène est bien connu chez diverses espèces animales (V. Railliet, *Zoologie médicale et agricole*) forme des kystes fermés dans la muqueuse et la sous-muqueuse. L'importance des kystes fermés, au point de vue des infections microbiennes chez les singes inférieurs, a déjà été mise en évidence par Weinberg (27). Mais l'ouverture des kystes dans l'intestin paraît autrement dangereuse. La sortie des vers hors des kystes provoque, en effet, des délabrements notables du gros intestin, tunnels, déchirures, hémorragies et quelquefois même transforme la muqueuse du cœcum et du colon, où on peut en trouver plusieurs centaines, en une véritable bouillie très favorable au développement des microbes pathogènes et à l'éclosion des amibes. Dans ces conditions, la dysenterie, primitivement vermineuse, peut servir de porte d'entrée à l'infection amibienne. Mais on ne peut en conclure que le macaque soit très sensible à cette dernière infection. Des lésions dysentériques microscopiques ont été vues par Musgrave et Clegg (39) chez le macaque et rapportées par eux aux amibes : on peut se demander, comme les lésions de la dysenterie à *Œsophagostomes* persistent après l'expulsion des helminthes, s'il s'agit bien, dans les expériences de Musgrave et Clegg (10), d'une véritable infection amibienne primitive.

CONCLUSIONS

Parmi les nombreux problèmes que soulève l'étude de l'amibiase intestinale et hépatique, je me suis attaché surtout, pendant ce premier séjour en Indo-Chine, à l'observation cytologique et à la spécification de l'amibe la plus commune

dans les déjections des dysentériques, dans les coupes d'intestin, et surtout dans les abcès du foie, dans la pathogénie desquels les amibes sont considérées à l'heure actuelle comme jouant le rôle capital.

J'ai pu retirer aseptiquement de la paroi des abcès et isoler en culture pure mixte une espèce amibienne : il me paraît incontestable que cette espèce, d'origine dysentérique, est capable de jouer un rôle dysentérigène. Le même protozoaire se rencontre d'ailleurs dans les coupes d'intestin dysentérique.

Cette espèce se distingue surtout par la richesse du noyau en chromatine, la rapidité de la division par bourgeonnement après émiettement du karyosome, la formation par enkystement total de kystes sphériques ou polygonaux, dont les dimensions sont très variables. Cette amibe est très polymorphe, mais ce polymorphisme s'observe même dans les cultures ayant un seul kyste pour origine : il ne s'agit donc pas d'espèces multiples et banales se rencontrant dans la suppuration hépatique, mais d'un seul parasite retiré de la paroi même de l'abcès.

L'étude cytologique de cette amibe a montré son identité avec une amibe commune dans l'intestin et les selles sanglantes des dysentériques et qu'on peut isoler également, parmi d'autres protozoaires, de l'eau d'alimentation en Cochinchine.

Il y a donc, à Saïgon, une amibe commune dans les abcès du foie, les ulcérations dysentériques et l'eau. Elle s'éloigne par sa morphologie et son cycle évolutif d'*Ent. coli*, d'*Ent. histolytica* et *E. tetragena*, les deux dernières déjà incriminées dans certains cas de dysenterie.

En raison de quelques affinités morphologiques que présente cette amibe pour *E. histolytica*, dont le cycle complet n'a pas encore été mis en évidence, le problème de sa spécification est très délicat.

Cette amibe semble pénétrer dans le tube digestif de l'homme à la faveur de la souillure pluviale des eaux et par l'ingestion de ces eaux et des légumes recueillis à la surface du sol.

Jusqu'à ce que le rôle respectif des amibes et des bactéries, dans la genèse de la dysenterie tropicale, soit délimité, la prophylaxie de la dysenterie en Extrême-Orient doit reposer sur l'usage exclusif d'eaux stérilisées et la proscription des légumes crus dans l'alimentation. C'est par l'application stricte de ces notions

que l'on diminuera notablement, dans nos corps de troupes coloniales, la morbidité dysentérique qui les frappe plus particulièrement.

Cette étude commencée à Saïgon, sous les auspices de M. le Dr Yersin, a pu être continuée à l'Institut Pasteur de Paris, grâce aux bienveillants conseils de M. Mesnil.

BIBLIOGRAPHIE

1. Calmette, *Arch. de médecine navale et col.*, 1893, et *Ac. de médecine*, 1894.
2. Métin, *Ann. d'hyg. et de méd. col.*, 1902.
3. Billet, *C. R. Soc. Biol.*, 46 mai 1903, p. 874.
4. Lesage A., *Ann. Inst. Pasteur*, janv. 1903, t. XIX, et *C. R. Ac. des Sc.*, 26 déc. 1904.
5. Vincent, *Presse médicale*, 23 déc. 1903, p. 879.
6. Dopter, *Presse médic.*, 5 nov. 1904, p. 705.
7. Lesage, *loc. cit.*
8. Schaudinn, *Arbeit. aus d. Gesundheit*. Bd. 49, Heft 3, 1903.
9. Brau, Feraud et Saint-Sernin, *Etude méthod. des eaux de Saïgon*, Saïgon, 1906.
10. W. Musgrave et T. Clegg, *Bureau of Govern. labor. Biol. Lab.*, n° 18, Manille, oct. 1904.
11. Gauducheau, *Gaz. hebd. des Sc. méd.*, Bordeaux, 28 avril 1907.
12. Bertrand et Fontan, *De l'entéro-colite chron. endémique des pays chauds*, Paris, O. Doin, 1887.
13. Jürgens, *Veroff. aus dem. Geb. des Milit. Sanitat.*, XX, 110, Berlin, 1902.
14. W. Musgrave et Clegg, *Philipp. Journ. of Science*, vol. I, n° 9, nov. 1906.
15. Viereck, *Beihefte zum Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, t. XV, Suppl. I, 41 p., juil. 1907.
16. Craig. C. F. *Am. Med. Phila.*, IX, 854, 897, 937.
— *Internat. Clin. Phila.* 14 ser., V. 4, 242, 298.
17. Walker, *Journ. of. Med. Research*, vol. XVII, n° 4, feb. 1908.
18. Hartmann, *Beihefte zum Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, Bd. XII, 1908.

19. Casagrandi et Barbagallo, *Ann. d'Igiene sperim.*, vol. VII, fasc. I, 489,
20. Craig, *Journ. of infect. diseases*, juin 1908.
21. Loesch F., *Archiv. f. path. Anat. Phys. u. klin. Med. von R. Virchow* 1874. 63, 496-211, X.
22. Hlava, *Zeitsch. b. böhmisch. Aerzte in Prag. Rev. Centralbl. f. Bakt.*, I. Abl., X, 1887.
23. Kruse et Pasquale, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd. 16, 1894.
24. Marchoux, *C. R. Soc. Biol.*, 4 nov. 1899, p. 870.
25. Harris, *Hartfield Prize Committee of the College of Phys. of Phila.* 8^e 143 p. 1901 et *Arch. Path. Anat. Berl.*, CLXVI, 67-77, 1901.
26. Lesage, *C. R. Soc. Biol.*, 28 juin et 5 juillet 1907, nos 22 et 23.
27. Weinberg, *C. R. Soc. Biol.*, 3 mars 1906, t. LX, p. 446.

LÉGENDE DES PLANCHES X, XI, XII, XIII.

PL. X. — *Fig. 1.* — Frottis de selle dysentérique dans l'entérocolite aiguë, coloré à l'hématoxyline ferrique éosine, après fixation au sublimé-alcool-acétique. Grandes et petites amibes. Gr. = 950 D.

Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. — Frottis d'abcès du foie (râclage de la paroi sur le vivant. — Amibes à divers stades de leur division. Hématoxyline ferrique éosine. Même grossissement.

Fig. 9, 10. — Grandes amibes des selles dysentériques à deux stades de division de la chromatine.

Fig. 11, 12, 13, 14. — Amibes des cultures d'origine hépatique. Figures karyokinétiques. Gr. = 1.200 D.

Fig. 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 27. — Amibes des cultures d'origine hépatique à divers stades de leur évolution.

Fig. 24, 25, 26, 28. — Amibes des cultures d'origine hépatique, enkystées; 24, fragmentation et dégénérescence.

Fig. 29. — Jeune amibe du foie en voie de reproduction par bourgeonnement.

(1) 1/2 1/2

PL. XI. — *Fig. 1.* — Cycle évolutif (demi-schématique) de l'amibe dysentérique de Cochinchine. Bourgeonnement, enkystement. a, globule rouge.

Fig. 2. — a, globules rouges; 1, amibes au repos; 2, amibe en dégénérescence; 3, amibe en dégénérescence pendant une division binaire; 4, amibe vivante; 5, une amibe contenant de nombreuses hématies et en mouvement rapide sur la lame porte-objet; 6, 7, 8, amibes en voie de reproduction par bourgeonnement; 9, autre aspect d'amibe; 10, amibe enkystée (toutes ces amibes vues à l'état frais dans les mucosités; gr. = 950 D.); 11. a, b, c, d, phases précédant l'enkystement de l'amibe dysentérique dans les matières fécales; 12, kystes formés sous le microscope dans les matières fécales de dysentérique; 13, kystes d'*Entamoeba coli* observés à l'état frais dans les matières fécales d'un Européen porteur de mucosités. Gr. = 500 D.

PL. XII. — *Fig. 1 et 2.* — Coupes d'intestin dysentérique montrant la pénétration et la multiplication des amibes dans les espaces intramusculaires : foyers de nécrose, faible colorabilité des tissus par le Giemsa, après fixation à l'alcool-formol. Gr. = 510 D.

Fig. 3. — Amibes des espaces interfasciculaires précédents, vues isolément,

avec un éosinophile. — Division de la chromatine nucléaire identique à celle qu'on observe dans les frottis de mucosités et les cultures.

Fig. 4. — Amibes des espaces interfasciculaires précédents, vues isolément. — Reproduction par bourgeonnement. Gr. = 1,200 D.

Fig. 5 et 6. — Amibes des abcès du foie, d'après des frottis colorés au Giemsa. — Diminution de la chromatine nucléaire. Gr. = 1,200 D.

Fig. 7. — Frottis de déjections dysentériques, colorés au Giemsa. *a*, amibes à différents stades de la division nucléaire; *b*, leucocytes poly — et mononucléaires; *c*, éosinophiles; *d*, globules rouges; *e*, jeunes amibes. — Gr. = 950 D.

PL. XIII. — Division et répartition de la chromatine nucléaire chez l'amibe commune de l'eau, en Cochinchine. — Frottis colorés à l'hématoxyline ferrique, après fixation au sublimé-alcool-acétique.

Contribution à l'étude physiologique de la papaïne.

Étude d'un phénomène de digestion brusque. Immunisation des animaux.

PAR E. POZERSKI

INTRODUCTION

La propriété digestive du latex de l'arbre à melons (*Carica papaya*) sur les matières albuminoïdes est connue et utilisée depuis fort longtemps.

Depuis les premières recherches expérimentales de Roy (1) (1874), Wittmack (2) (1878), Beckolt (3) (1879), Moncorvo (4) (1879), Wurtz et Bouchut (5) (1879-1880), Martin (6) (1884-1885), etc., qui établissaient que cette propriété est liée à l'existence d'un ferment soluble, la *papaïne* (7), de nombreux travaux ont été publiés sur la question. La plupart ont trait aux conditions de milieu les plus favorables à l'action du ferment ou à l'étude des produits formés : les auteurs se sont proposé le plus souvent de comparer, à l'un ou à l'autre point de vue, la papaïne aux ferments protéolytiques animaux les plus étudiés, la pepsine et la trypsine. Les résultats qu'ils ont obtenus ne sont pas toujours très concordants et il est souvent difficile de savoir exactement à quelle cause il faut attribuer les divergences. On a souvent négligé, entre autres choses, d'indiquer minutieusement la nature et surtout l'état des matières avec lesquelles on a opéré ou les procédés employés pour apprécier l'intensité de la digestion. Or, on sait que les circonstances même les plus légères en apparence peuvent modifier considérablement les actions diastasiques.

L'étude du phénomène qui fera l'objet de la première partie de ce travail montrera, en particulier, combien les actions diasta-

(1) ROY, *Glasgow Med. Journ.*, 1874.

(2) WITTMACK, *Bericht. Gesell. naturforsch. Freunde*, Berlin, 1878, p. 40.

(3) BECKOLT, *Zeitsch. der allg. osterr. Apot. Verein*, t. XVIII, p. 361, et *Pharm. Journ.*, 3^e sér e, t. X, p. 343.

(4) MONCORVO, *Journal de Thérapie*, t. VII, p. 6, 1880.

(5) WURTZ et BOUCHUT, *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. LXXXIX, p. 425, 1879. WURTZ, *C. de l'Acad. des Sciences*, t. XC, p. 1379 et p. 787, 1880.

(6) MARTIN, *Journ. of. Physiology*, t. V, p. 213, 1884, et même journal, t. VI, p. 336, 1885.

(7) Rappelons que le nom de *papaïne* a été donné à ce ferment par Wütz. Antérieurement, Beckolt avait employé pour le désigner le nom de *papayotine* encore en usage aujourd'hui, surtout en Allemagne. Moncorvo, de son côté, l'avait appelé *cari-cine*.

siques sont parfois différentes les unes des autres et à quelles conclusions erronées on serait conduit en prétendant étudier certaines d'entre elles dans les circonstances qui ont paru convenables pour l'étude de certaines autres.

Nous n'avons pas à faire ici l'historique des recherches extrêmement nombreuses auxquelles la papaïne a donné lieu. Nous ne retiendrons des études antérieures aux nôtres que quelques points qui paraissent en rapport avec les faits exposés dans ce travail.

Une première donnée intéressante à notre point de vue ressort des expériences relatives à la détermination des températures mortelles pour le ferment : la papaïne est plus résistante à l'action de la température que la pepsine ou la trypsine. Harlay (1), qui a comparé à cet égard les trois ferments protéolytiques, conclut que la papaïne, chauffée en solution aqueuse, commencée à s'atténuer à partir de 75°, mais qu'il faut atteindre la température de 82°-83°, maintenue pendant une demi-heure, pour supprimer complètement son action protéolytique. Portée pendant le même temps à 60°, la pepsine subit déjà un affaiblissement marqué et le chauffage d'une demi-heure vers 68° la détruit presque complètement. Quant à la trypsine, elle serait, d'après le même auteur, moins résistante encore puisqu'il suffirait de porter le ferment pendant 30 minutes à 60° pour obtenir la disparition presque complète du pouvoir digestif. Ces chiffres n'ont évidemment qu'une valeur relative, car les résultats obtenus doivent varier plus ou moins avec les préparations de ferments, la dilution, la durée du chauffage, etc. Il n'en est pas moins incontestable que des trois ferments protéolytiques envisagés, la papaïne est celui qui paraît de beaucoup le moins sensible à l'action de la chaleur.

À la notion de la température mortelle des ferments solubles se rattache naturellement, lorsqu'on étudie leur action, celle de température *optimum* et celle de températures *limites*. On sait que les diastases présentent en général leur maximum d'activité à une température assez voisine de la température mortelle. On était donc en droit de supposer que l'*optimum* de la papaïne se plaçait à un niveau sensiblement plus élevé que celui de la pep-

(1) HARLAY, *Thèse de l'Université de Paris* (Pharmacie), 1900, et *Journ. de Pharm. et de Chim.*, t. XI, 1900.

sine ou de la trypsine, par exemple. En fait, il ne semble pas que des recherches très nombreuses aient été entreprises dans cette question. L'opinion classique, celle que l'on trouve exprimée dans l'ouvrage de Green (1) par exemple, est que : « The optimum temperature for papaïn is 35°-40° C » (Martin), ou encore que « The optimum temperature for the working of papaïn is 40° C » (Rideal). En nous reportant aux publications de Martin (2) nous n'avons pas trouvé qu'il fût fait mention d'expériences réalisées à des températures supérieures à 40°. Voulant contrôler une assertion de Rosbach (3) qui affirmait que la papaïne digère aussi bien à la température du laboratoire qu'à celle de l'étuve, Martin s'est borné à comparer l'activité du ferment à basse température (15°) et à 40°. Les résultats de ses expériences l'ont conduit à cette conclusion que, quoique la papaïne ne soit pas absolument sans effet sur la fibrine à 15°, elle se montre beaucoup plus active lorsqu'on s'opère au voisinage de 40°.

Rideal (4) a étudié systématiquement l'action de la papaïne sur l'ovalbumine coagulée en opérant à des températures variant entre 28° et 48°. Il conclut de ses expériences que le pouvoir digestif du ferment croît progressivement jusqu'à 40°, mais que son activité diminue rapidement aux températures plus élevées. Il remarque à ce propos que : « It is interesting to note that the temperature at which the digestive action is most pronounced is approximatively the temperature of the blood. » Il ajoute : « This is a remarkable fact, and a coincidence which it is difficult to explain. »

Une donnée assez précise qui se dégage des recherches de Martin, mentionnées plus haut, est que la température de 15° ne doit pas être éloignée de la limite inférieure à laquelle le ferment commence à manifester son action. Pour ce qui a trait à la détermination des limites supérieures, nous n'avons aucun renseignement précis. Une observation isolée, due à Wittmack (5), montrerait cependant que la papaïne peut encore exercer son pouvoir digestif à 60-65°, ce qui, d'après cet auteur, distinguerait le ferment du *Carica* de la pepsine.

(1) J.-R. GREEN, *The soluble ferments and fermentation*. Cambridge, 1899.

(2) MARTIN, *Loc. cit.*

(3) ROSBACH, *Z. f. klin. Med.* 1883, p. 527.

(4) RIDEAL, *Pharm. Journ.* 3^e sér., t. XXV, 1894-95, p. 183.

(5) WITTMACK, *Communication à la Société d'histoire naturelle de Berlin* (1878), citée d'après Dujardin-Beaumetz et Egasse. *Les plantes médicinales*, F^o 449.

Il y a lieu de faire remarquer immédiatement que la plupart des études relatives à la papaine ont été faites en s'adressant à la fibrine ou à l'ovalbumine coagulée. Or, comme on le verra d'une façon saisissante au cours de ce travail, la nature et surtout l'état de la matière à digérer constituent, au moins pour la papaine, une condition capable de faire varier à un haut degré les limites et l'*optimum* de température. On eût vraisemblablement fait cette constatation si l'on avait tenté l'étude systématique de l'action de la papaine sur les matières albuminoïdes prises à l'état naturel : sérum sanguin ou albumine d'œuf. Or, non seulement la littérature relative à la papaine est muette sur ce point, mais nous ne possédons même aucun document sur la digestion des sérums naturels. Pour ce qui a trait à l'ovalbumine, on ne trouve que deux ou trois observations qui paraissent avoir été faites incidemment et qui seraient certainement restées dans l'oubli, si nos recherches n'avaient pas fourni, aux auteurs qui en ont tenté la vérification, l'occasion de les découvrir.

D'après Fr. Sachs (1), Wittmack (2) aurait signalé que l'albumine liquide additionnée de latex de *Carica* devient gélatineuse lorsqu'elle est portée à 58-60°, se dissout ensuite complètement par chauffage prolongé et se transforme à 80° en un liquide laiteux qui présente les propriétés des peptones.

D'après le même auteur, Hirsch (3) a cru observer qu'après une digestion de quatre heures à 38° l'ovalbumine liquide était fortement digérée par la papaine. Rehm (4) aurait constaté, d'autre part, qu'après 7 heures d'étuve, 70 à 75 0/0 d'albumine d'œuf liquide pouvait être digérée par la papaine. Il est important de noter ici que ces auteurs mesuraient la quantité d'albumine digérée en ayant recours à la coagulation par la chaleur, en milieu faiblement acétique. On verra, au cours de notre exposé, que la méthode de mesure qu'ils ont employée les a conduits, avec des observations d'ailleurs exactes, à des conclusions tout à fait erronées.

La première partie de ce travail est née précisément de recher-

(1) FR. SACHS, *Zeitsch. f. physiolog. Chem.*, t. LI, 1907, p. 488.

(2) WITTMACK, 52 *Versamml. deutsch. Naturfors. u. Aerzte*, Baden-Baden, 1879.
c 162 d'après Albrecht. *Corr. B. f. schweiz. Aerzte*, p. 684.

(3) HIRSCH, *Therap. Monatsh.*, 1894, p. 609.

(4) REHM, *Inaug. Dissert.*, Munich, 1903.

ches tentées dans le but de comparer l'action de la papaïne sur les albuminoïdes naturels et sur les albuminopides modifiés par la coagulation. Les résultats inattendus des premières expériences, qu'il paraissait d'abord difficile d'interpréter, nous ont amené à reconnaître l'existence d'un phénomène diastasique, d'allure singulière, qui se caractérise par sa brusquerie, son intensité et surtout par les conditions de température où il se produit.

Faites pour la plupart en collaboration avec mon maître, M. C. Delezenne, et mon ami M. H. Mouton, les recherches qui font l'objet de cette première partie ont donné lieu à quelques notes préliminaires (1) dont les résultats fondamentaux ont été confirmés et développés sur quelques points par Jonescu (2) et Fr. Sachs (3).

La seconde partie de notre travail se rattache à la précédente par l'étude de l'action digestive de la papaïne sur le sérum des animaux préparés par des injections répétées de ferment. Elle a spécialement trait à la recherche et à l'analyse de quelques réactions caractéristiques qui peuvent apparaître au cours des essais d'immunisation.

Très peu de résultats avaient été obtenus dans cette voie. Quelques auteurs avaient simplement signalé l'impossibilité d'immuniser les animaux de laboratoire contre l'action toxique des préparations de ferment. Tout en confirmant ces observations, nous avons pu noter certaines modifications subies par l'organisme pendant la préparation, en particulier la présence d'anticorps dans le sérum et l'hypermotilité manifestée par certaines espèces (4).

(1) DELEZENNE, MOUTON et POZERSKI, Sur l'allure anormale de quelques protéolyses produites par la papaïne. *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LX, 1906, p. 68.

DELEZENNE, MOUTON et POZERSKI, Sur la digestion brusque de l'ovalbumine du sérum sanguin par la papaïne. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXIV, 1908, p. 309.

MOUTON et POZERSKI, Liquéfaction instantanée du blanc d'œuf par la papaïne L, à la température du laboratoire. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXIV, 1908, p. 86.

POZERSKI, Digestion rapide par la papaïne à haute température, de quelques tissus animaux. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXIV, 1908, p. 1105.

(2) JONESCU, *Bioch. Zeitsch.*, t. II, 1906, p. 177.

(3) FR. SACHS, *Loc. cit.*

(4) POZERSKI, Anaphylaxie du cobaye à la papaïne. *C. R. Soc. de Biol.* 1908, t. LXIV, p. 631.

POZERSKI, Sur la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum des lapins préparés contre la papaïne. *C. R. Soc. de Biol.* 1908, t. LXIV, p. 896.

PREMIÈRE PARTIE

Etude d'un phénomène de digestion brusque par la papaïne.

I. — PREMIERS ESSAIS DE DIGESTION DE L'OVALBUMINE ET DU SÉRUM NATURELS PAR LA PAPAÏNE. LEURS RÉSULTATS.

On sait depuis longtemps que les matières albuminoïdes des tissus et des liquides de l'organisme présentent, à l'état naturel, une résistance remarquable à l'action de certains ferments protéolytiques, particulièrement la trypsine. Dans ses leçons de physiologie expérimentale, Claude Bernard signalait déjà que des fragments de tissus portés à l'état frais dans du suc pancréatique finissent par se putréfier sans avoir subi l'attaque du ferment, alors que les mêmes tissus soumis à une cuisson préalable se digèrent très rapidement. L'étude systématique de l'action de la trypsine sur les tissus et les liquides albuminoïdes conduisit plus tard à cette conclusion (Fermi) que non seulement l'albumine *naturelle*, c'est-à-dire telle qu'elle se présente dans les organismes vivants, offre à l'action de la trypsine une résistance maximum, mais qu'elle possède à un haut degré la propriété d'entraver l'action digestive du ferment sur les matières albuminoïdes qu'une *dénaturation* préalable a pu rendre faciles à attaquer. Fermi (1), Pugliese et Coggi (2), Hahn (3), Camus et Gley (4), Landsteiner (5), etc., ont étudié soigneusement ce phénomène qu'ils ont rapporté à l'action antagoniste d'un antiferment, l'antitrypsine qui existerait normalement dans les liquides albuminoïdes naturels, le sérum sanguin par exemple.

Que l'action empêchante de ces liquides soit due réellement à la présence d'un antiferment, qu'elle s'explique, comme on l'a soutenu plus récemment, par un simple phénomène d'adsorp-

(1) FERMI, *Cent. f. physiol.*, 1894.(2) PUGLIESE et COGGI, *Bullet. Scienc. med.*, 1897.(3) HAHN, *Berlin Klin. Woch.* 1897.(4) CAMUS et GLEY, *Bullet. de la Soc. de Biolog.*, 1897.(5) LANDSTEINER, *Centr. f. Bact.*, 1900.

tion entre colloïdes ou qu'elle relève d'une tout autre cause, il importe peu. Quel qu'en soit en effet le mécanisme, cette action nous apparaît comme un moyen employé par l'organisme pour protéger les éléments qui le constituent contre l'action nocive de ses propres ferments. Partant de ce point de vue, il était intéressant de se demander si les matières albuminoïdes animales se comportent de la même manière lorsqu'on les met en contact avec des ferments qui leur sont tout à fait étrangers, avec des ferments protéolytiques d'origine végétale, par exemple. C'est pour répondre à cette question que nous nous étions proposé d'étudier tout d'abord comparativement l'action digestive de la papaïne sur des albuminoïdes naturels (sérum sanguin ou albumine d'œuf) et sur les mêmes substances préalablement coagulées par la chaleur.

L'expérience à réaliser se présentait, semble-t-il, d'une manière très simple. On devait maintenir à une température supposée convenable pour l'action du ferment, à 38-40° par exemple, un mélange de l'albuminoïde en expérience et d'une solution de papaïne et mesurer après un certain temps la quantité de matière digérée. Pour faire cette mesure, il paraissait indiqué d'employer la technique ordinairement en usage pour apprécier la digestion des albuminoïdes, c'est-à-dire de porter à la température d'ébullition, en milieu acide, le mélange de digestion et d'évaluer la quantité de matière transformée, soit par la pesée du coagulum, soit par le dosage de l'azote dans le précipité ou le filtrat.

Nos premiers essais donnèrent d'emblée des résultats singuliers : Dans les mélanges de papaïne et d'ovalbumine coagulée, la digestion, à peine marquée dans les deux ou trois premières heures d'étuve, subissait un accroissement régulier, de telle sorte que pour une dose convenable de ferment, la plus grande partie de la substance attaquable finissait par disparaître. Dans les mélanges d'ovalbumine liquide et de papaïne, la digestion était souvent au contraire très considérable au début de l'expérience; mais, chose curieuse, la quantité de matière transformée, loin de s'accroître, semblait se réduire progressivement, comme si l'on avait affaire à un véritable phénomène de rétrogradation. De cette marche en apparence inverse des deux phénomènes digestifs, il résultait évidemment que si l'on n'eût comparé que deux échantillons, prélevés après deux ou trois heures d'étuve par

exemple, on aurait été amené à conclure que la papaïne digère beaucoup plus aisément l'ovalbumine crue que l'albumine coagulée. Si, au contraire, la comparaison n'avait porté que sur deux échantillons, prélevés après 12 ou 14 heures de digestion, on serait arrivé non moins logiquement à la conclusion opposée, c'est-à-dire que l'albumine crue était infiniment moins attaquable par la papaïne que l'albumine coagulée.

Quelques expériences répétées dans les mêmes conditions que les précédentes, mais en substituant le sérum sanguin à l'albumine d'œuf, donnèrent des résultats identiques.

Cette allure tout à fait anormale du phénomène de digestion des matières albuminoïdes naturelles nous amenait à en étudier minutieusement la marche dans l'espoir d'arriver à en trouver une explication.

Sans s'arrêter tout d'abord à la régression apparente de la digestion que l'on avait observée lorsque le temps de contact s'était prolongé, on songea à regarder quelle serait la grandeur du phénomène lorsqu'on se rapprocherait de l'origine des temps et où se placerait le maximum de l'action dont on n'avait mis en évidence que la période décroissante. On répéta donc les mêmes expériences en ne laissant le ferment et l'albumine en contact que pendant une durée qui peut être considérée comme très courte, lorsqu'il s'agit de protéolyse d'une matière albuminoïde naturelle : un quart d'heure, une demi-heure, une heure par exemple. On observa que dans ces conditions la digestion de l'ovalbumine crue ou du sérum sanguin était plus considérable encore que dans les expériences précédentes et que le maximum se plaçait à nouveau dans l'échantillon qui avait séjourné le moins longtemps à l'étuve. Après une demi-heure, par exemple, la moitié, quelquefois même les deux tiers des substances coagulables échappaient à l'action de la chaleur. Pendant le même temps, la digestion de l'ovalbumine ou du sérum coagulés était généralement nulle ou presque nulle.

Il était légitime de supposer qu'un phénomène qui atteignait son maximum avec une telle rapidité à la température de l'étuve se ralentirait sensiblement si les mélanges étaient abandonnés à une température plus basse, à 20° par exemple. On espérait ainsi pouvoir suivre plus facilement encore la marche de la digestion dès l'origine de l'expérience et être à même d'en tracer

assez exactement la courbe. Or, une première expérience faite à la température du laboratoire (18°) nous montra qu'à l'inverse de ce que nous supposions, l'albumine subissait en un espace de temps très court (30 minutes) une digestion au moins égale à celle que l'on avait constatée à 40°. On répéta donc l'expérience en ne laissant le ferment et l'albumine au contact que pendant quelques minutes; on s'efforça même de réduire le temps de contact préalable le plus possible en portant le mélange, aussitôt après l'addition de papaïne, à la température d'ébullition. On arriva à des résultats qui rappelaient exactement les précédents. Non seulement il y eut digestion très intense lorsque le mélange avait été chauffé aussitôt effectué, mais c'était encore là que le poids de matière coagulable était minimum. D'autre part, en amenant séparément l'ovalbumine ou le sérum et la solution de papaïne à la température de 0°, en les mélangeant à cette température et en portant brusquement les liquides de 0° à 100°, on n'observa après chauffage aucune diminution de la matière digérée.

Les expériences que nous rapportons ci-dessous ont été choisies dans le but de présenter en raccourci l'ensemble des faits que nous avons successivement observés dans cette première partie de nos recherches.

EXP. I. — Dans une série de flacons, on introduit 15 c. c. d'albumine d'œuf crue étendue au 1/3 dans l'eau salée physiologique. On ajoute à chacun d'eux 5 c. c. d'une solution de papaïne de Merck à 2 0/0 dans l'eau physiologique et on porte à l'étuve à 38°. Les mélanges sont successivement retirés de l'étuve au bout de 3, 5, 8, 12, et 16 heures. Ils sont alors additionnés de 2 gouttes d'acide acétique et portés directement à la température d'ébullition pour coaguler les matières albuminoïdes qui ont échappé à la digestion. Les précipités formés sont jetés sur des filtres tarés, lavés à l'eau bouillante, puis desséchés à l'étuve, à 110° jusqu'à constance de poids. Un échantillon témoin dans lequel on a ajouté aux 15 c. c. d'albumine diluée 5 c. c. de la solution de papaïne chauffée à 100° pendant 5 minutes est traité de la même façon. Le tableau suivant indique l'intensité de la digestion dans l'ensemble de la série.

TEMPS DE SÉJOUR à 33°	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin.....	420 milligr.	
3 heures.....	248 milligr.	202 milligr.
5 heures.....	240 milligr.	180 milligr.
8 heures.....	257 milligr.	163 milligr.
12 heures.....	272 milligr.	148 milligr.
16 heures.....	289 milligr.	131 milligr.

Exp. II. — On fait une série de mélanges contenant 15 c. c. d'albumine d'œuf diluée au 1/3 dans l'eau salée physiologique et 2 c. c. de la solution de papaïne de Merck à 2 0/0. L'un deux est additionné aussitôt fait de 2 gouttes d'acide acétique et porté rapidement à 100°. Les autres sont abandonnés à la température du laboratoire (18°), pendant des temps variables, puis traités de la même façon que le précédent. Les précipités recueillis sur des filtres tarés sont soigneusement lavés et desséchés jusqu'à constance de poids.

TEMPS DE SÉJOUR à 18°.	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin	338 milligr.	
1 minute.....	226 milligr.	412 milligr.
5 minutes.....	232 milligr.	406 milligr.
10 minutes.....	243 milligr.	95 milligr.
15 minutes.....	250 milligr.	88 milligr.
30 minutes.....	259 milligr.	79 milligr.
1 heure	283 milligr.	55 milligr.
2 heures.....	289 milligr.	49 milligr.
4 heures.....	297 milligr.	44 milligr.

EXP. III. — Solution de papaïne de Merck à 2 0/0 dans l'eau physiologique. Sérum de mouton étendu de 2 volumes d'eau physiologique.

Dans une série de flacons on distribue 15 c. c. de sérum dilué auxquels on ajoute 2 c. c. de la solution de papaïne. L'un des échantillons est additionné aussitôt après mélange de 2 gouttes d'acide acétique et porté immédiatement à 100°. Les autres échantillons sont maintenus à la température du laboratoire (18°) et soumis au même traitement 5, 10, 15, 30 minutes, etc., plus tard.

Après coagulation des matières albuminoïdes, les liquides sont jetés sur des filtres tarés, les précipités soigneusement lavés à l'eau acidulée, puis desséchés à 110° jusqu'à constance de poids.

On ajoute à la série un échantillon témoin contenant 15 c. c. de sérum dilué et 2 c. c. de papaïne, préalablement portée à 100° pendant 5 minutes.

TEMPS DE SÉJOUR à 18°.	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin	405 milligr.	
1 minute	181 milligr.	224 milligr.
5 minutes	182 milligr.	223 milligr.
10 minutes	198 milligr.	207 milligr.
15 minutes	216 milligr.	189 milligr.
30 minutes	230 milligr.	175 milligr.
1 heure	254 milligr.	151 milligr.
2 heures	263 milligr.	142 milligr.
4 heures	276 milligr.	129 milligr.

Exp. IV. — On introduit dans quatre flacons 15 c. c. de sérum de bœuf dilué au 1/3 et l'on porte chacun d'eux à des températures variables. L'un est placé à l'étuve à 40°, un autre est abandonné à la température du laboratoire (20°), le troisième est amené à 10°, le quatrième est refroidi à 0°. Quand l'équilibre de température est atteint, on ajoute à chacun des flacons 4 c. c. d'une solution de papayotine de Merck à 4 0/0 amenée elle-même préalablement aux diverses températures correspondantes.

Les mélanges additionnés de deux gouttes d'acide acétique sont portés aussitôt faits, et très rapidement, de la température initiale à la température d'ébullition. Les matières albuminoïdes coagulées sont recueillies sur des filtres tarés, les précipités lavés soigneusement, puis desséchés jusqu'à constance de poids.

TEMPÉRATURE INITIALE des mélanges.	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin.....	323 milligr.	260
40°.....	63 milligr.	260 milligr.
20°.....	62 milligr.	261 milligr.
10°.....	60 milligr.	262 milligr.
0°.....	64 milligr.	259 milligr.

51] Le phénomène curieux que nous venions d'observer était bien de nature diastasique, puisqu'en substituant à la solution de papaine une solution de ferment portée au préalable à la température de 100°, on retrouvait dans la matière coagulable la totalité des albuminoïdes soumis à l'action du ferment. D'autre part, en évaluant dans les expériences extemporanées la quantité de matière transformée en fonction de la quantité de papaine employée, on observait que la digestion suivait, au moins, dans de certaines limites, la loi de Schutz-Borissow : la quantité de matière transformée variait en effet d'une façon sensiblement proportionnelle à la racine carrée de la quantité de ferment ajoutée. C'est ce que paraît démontrer l'expérience suivante :

EXP. V. — A 15 c. c. de sérum de chien dilué au 1/3 dans l'eau salée physiologique, on ajoute des quantités variables de la solution de papaine de Merck à 2 0/0. On amène tous les mélanges au même volume en complétant avec la solution physiologique.

Les divers mélanges additionnés de 2 gouttes d'acide acétique sont portés rapidement à la température d'ébullition. Les précipités sont recueillis sur des filtres tarés, lavés et desséchés jusqu'à constance de poids.

QUANTITÉ de papaine employée.	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin.....	350 milligr.	»
4 c. c.....	80 milligr.	270 milligr.
2 c. c.....	146 milligr.	204 milligr.
1 c. c.....	191 milligr.	159 milligr.
0 c. c. 5.....	251 milligr.	99 milligr.
0 c. c. 25.....	280 milligr.	70 milligr.

Le graphique ci-contre (fig. 1) dans lequel les quantités de ferment de l'expérience précédente ont été portées en abscisses et les quantités d'albumine digérée en ordonnées, donne, avec les points expérimentaux, la courbe calculée théoriquement d'après l'un de ces points (0,25-70). On voit que tous les points expérimentaux, sauf un, se placent au voisinage immédiat de la courbe théorique.

L'examen des filtrats nous montrait que la transformation presque instantanée de l'albumine, que nous venions d'observer, aboutissait à la formation de produits de digestion relativement avancés. Non seulement ces filtrats présentaient toutes les réactions caractéristiques des protéoses, mais, après précipitation par le sulfate d'ammoniaque à saturation, ils donnaient encore une réaction de biuret très intense, preuve qu'il s'était formé dans le court espace de temps pendant lequel on avait opéré une quantité très appréciable de peptone.

Toutes ces expériences avaient été faites en utilisant des préparations commerciales de papaine fréquemment employées dans les recherches de laboratoire. Nous nous étions servi, en particulier, des produits fournis par la maison Merck sous le nom de papaine et de papayotine. Tous les deux nous avaient donné des résultats de même ordre quoique en général le degré de leur

activité se fût montré assez différent (1). Il était donc nécessaire, avant de poursuivre nos recherches sur cette question, de contrôler les premiers résultats obtenus en éprouvant l'action d'un

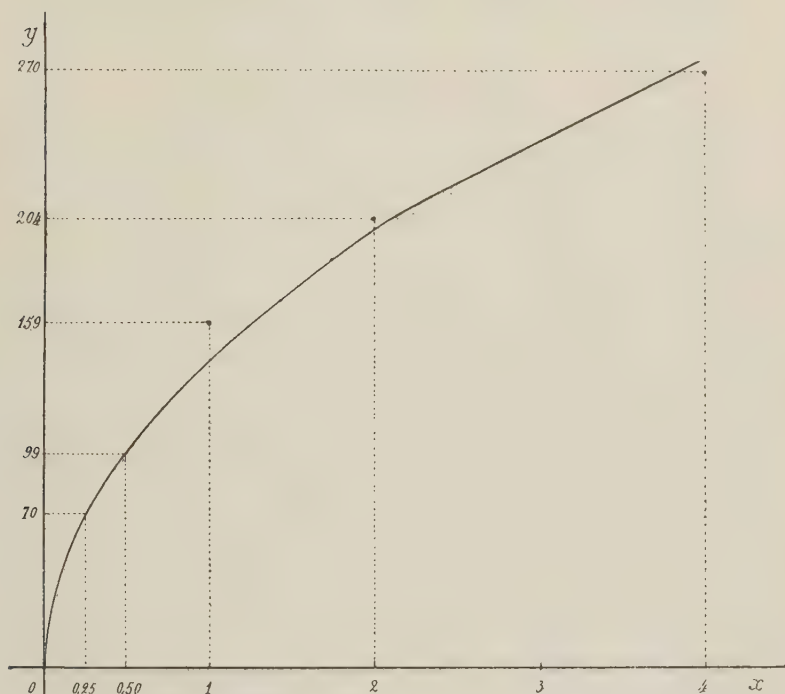


Fig. 1.

latex de papayer recueilli par nous-même, dans des conditions qui excluait toute cause d'erreur (impuretés, altération, etc.) capable de vicier les résultats. Grâce à l'obligeance de M. Guignard nous avons eu à notre disposition quelques spécimens de papayer (*Carica quercifolia*) sur lesquels nous avons pu prélever dans de bonnes conditions du latex qui a été mis à dessécher aussitôt et qui nous a servi ensuite pour quelques expériences de contrôle. Les résultats ont été tout à fait identiques à ceux que

(1) En général, les échantillons de papaïne se sont montrés plus actifs que ceux de papayotine. Quelques-uns de ces derniers qui digéraient la fibrine avec une intensité à peu près égale à celle de la papaïne n'agissaient que très faiblement sur le sérum ou l'albumine, au moins dans les conditions particulières de nos expériences : nous avons eu plus récemment des échantillons de papayotine qui nous ont fourni de très bons résultats.

nous avaient fournis les préparations commerciales de Merck. Le phénomène de digestion brusque constaté dans toutes ces expériences est donc bien produit par la papaïne. A défaut d'autres indications, ce sont les produits de Merck qui seront désignés au cours du travail sous les noms de papaïne et de papayotine.

Laissant de côté pour un instant l'apparence paradoxale d'une digestion dont l'intensité décroît lorsque croît le temps de contact entre le ferment et la matière à digérer, nous nous trouvons tout d'abord en présence du phénomène tout aussi singulier d'une digestion véritable, instantanément produite par l'action d'un ferment.

Non moins que la brusquerie de cette action, son indifférence vis-à-vis des températures auxquelles elle paraissait se produire semblait devoir tout d'abord l'écarter des réactions diastasiques ordinaires. Mais, étant donné la rapidité qu'on était obligé de lui supposer si l'on admettait qu'elle s'accomplissait pendant le temps parfois très court où les matières étaient mélangées, on était inévitablement amené à se demander si la période toujours très courte également (de l'ordre de la minute) pendant laquelle on élève la température du mélange pour le porter à l'ébullition n'intervient pas, et peut-être d'une manière prépondérante ou même exclusive.

Quelques-unes des observations antérieures paraissaient particulièrement favorables à cette dernière hypothèse : si la digestion s'accomplissait pendant la courte période pendant laquelle le mélange s'élève rapidement vers la température de l'ébullition, on comprenait facilement qu'il fût indifférent de partir d'un mélange à 0° ou à 20°-40°. D'autre part, la diminution observée dans l'intensité de la digestion lorsque le temps de contact aux températures peu élevées allait en croissant, trouvait dans cette nouvelle hypothèse une explication naturelle. Au lieu d'une régression de la digestion, difficile à accepter, on pouvait supposer qu'à ces températures il se produit seulement une atténuation progressive du ferment en présence de la matière à digérer. L'hypothèse que nous venons d'admettre provisoirement, nous avons cherché à l'appuyer sur des preuves directes que nous allons exposer maintenant.

II. — ABSENCE DU PHÉNOMÈNE DE DIGESTION BRUSQUE AUX TEMPÉRATURES ORDINAIRES.

Supposer que le phénomène de digestion brusque que nous avons observé n'avait pas lieu aux températures ordinaires, mais se produisait pendant le chauffage, c'était mettre en doute, dans le cas qui nous occupe, la validité du seul procédé classique employé tout à la fois pour arrêter la digestion et pour séparer les albuminoïdes de leurs produits de transformation. On se mettait par là dans la nécessité de trouver un moyen nouveau qui, sans modifier la température, permette d'arrêter définitivement l'action du ferment ou de séparer complètement les albumines des produits de la digestion. Faute d'un procédé permettant d'obtenir rigoureusement l'un ou l'autre de ces résultats, on pouvait tout au moins donner à l'hypothèse adoptée un certain degré de vraisemblance, si au moyen de procédés de séparations partielles on obtenait les mêmes résultats en présence ou en l'absence du ferment actif.

Précipitation par les sels. — L'action précipitante de certains sels, communément employés pour effectuer la séparation partielle de différents produits de digestion, ne pouvait nous donner que très imparfaitement la solution recherchée. La précipitation par le sulfate de zinc ou le sulfate d'ammoniaque à saturation pouvait cependant nous fournir une donnée précise. La peptone, dont nous avons toujours constaté l'existence dans les filtrats des liquides soumis à la coagulation par la chaleur, apparaissait-elle dès les températures ordinaires?

L'expérience suivante montre que le sulfate d'ammoniaque, dissous à saturation dans nos liquides légèrement acidulés, précipite avec la même intensité les mélanges où la papaïne a été remplacée par une dose égale de ferment préalablement bouilli.

D'autre part, les liquides séparés du précipité par filtration ne donnent nullement la réaction du biuret, alors que celle-ci est toujours très intense dans les filtrats des mélanges précipités par le même agent, après action de la chaleur.

EXP. VI. — On fait les 3 mélanges suivants :

- a) Albumine d'œuf diluée de moitié 15 c. c. + Solution de papaïne 5 c. c.
- b) Albumine d'œuf diluée de moitié 15 c. c. + Solution de papaïne 5 c. c.
- c) Albumine d'œuf diluée de moitié 15 c. c. + Solution de papaïne à 2 0/0 bouillie 5 minutes 5 c. c.

Les 3 mélanges sont maintenus 10 minutes à la température du laboratoire.

Au bout de ce temps, a) est porté à l'ébullition, refroidi et additionné de SO^4Zn à saturation, b) et c) sont au contraire additionnés d'emblée de SO^4Zn à saturation.

Dans les 3 précipités soigneusement recueillis, on dose l'azote total par la méthode de Kjeldahl. On obtient les résultats suivants :

Azote de a)	68 mgr
— de b)	93 mgr 24
— de c)	92 mgr 40

Le filtrat de a) donnait une réaction du biuret très intense même après avoir été fortement dilué. Les filtrats de b) et c) ne donnaient au contraire que la légère coloration bleue violacée due à la petite quantité d'albumine qui avait échappé à la coagulation et aux albuminoïdes de la solution de papaïne.

Il ne se forme donc pas de peptone vraie à la température ordinaire. C'est d'ailleurs le seul renseignement précis que pouvait nous fournir l'emploi de ces agents. A des concentrations plus faibles, en effet, les mêmes sels ne précipitent plus les albumoses que partiellement et ils laissent, d'autre part, une portion plus ou moins importante de l'albumine en solution.

Pour des raisons du même ordre, l'emploi du sulfate de magnésie ou du chlorure de sodium dissous à saturation ne pouvait guère nous fournir de renseignements exacts sur la présence d'albumoses dans nos liquides, puisque diverses fractions de ces substances précipitent sous l'influence de ces deux sels en même temps que les globulines, alors que d'autres échappent totalement à la précipitation et se retrouvent dans les filtrats avec l'albumine. Nous mentionnerons toutefois que le sulfate de magnésie dissous à saturation dans le sérum ou l'ovalbumine donne des précipités de même poids et d'égale richesse en azote, qu'il s'agisse des mélanges additionnés de papaïne ou des mélanges témoins. Ce résultat se produirait difficilement, semble-t-il, si les matières albuminoïdes avaient été plus ou moins modifiées par la digestion.

Précipitation par l'alcool. — Des expériences antérieures,

faites dans le but de caractériser les produits de digestion obtenus après coagulation par la chaleur, nous avaient montré que les produits de transformation qui passent dans les filtrats sont totalement ou presque totalement solubles dans l'alcool à 75°. En dehors de la peptone, ces produits sont presque exclusivement constitués par des albumoses secondaires. Cette donnée nous permettrait de rechercher si les mêmes produits se forment dans l'ovalbumine ou le sérum additionnés de papaïne et conservés un temps variable à la température du laboratoire. En amenant les mélanges de digestion, soit aussitôt après qu'ils avaient été effectués, soit même après quelques heures, à un titre alcoolique d'environ 70°-75°, nous avons pu nous assurer qu'ils donnaient des précipités de poids sensiblement égal à ceux des mélanges témoins traités par l'alcool dans les mêmes conditions. C'est ce que nous montrent très nettement les deux expériences ci-dessous.

Exp. VII. — A deux mélanges contenant 10 c. c. d'albumine d'œuf diluée de moitié on ajoute *a*) 5 c. c. de la solution de papaïne à 2 0/0, *b*) 5 c. c. de la même solution portée à 100° pendant 5 minutes. Aux deux mélanges on ajoute après 5 minutes de contact une quantité d'alcool absolu, telle que le titre alcoolique soit au voisinage de 70 0/0. Quand les précipités formés n'augmentent plus, on les jette sur des filtres tarés. On lave à l'alcool à 70°, on dessèche jusqu'à constance de poids et on pèse.

Les poids des précipités sont respectivement :

<i>a</i>)	480 mgr
<i>b</i>)	473 mgr

Un échantillon *c*) identique au premier, porté à la température d'ébullition, puis amené après refroidissement au titre alcoolique de 70°, donne un précipité égal à 205 milligrammes.

Exp. VIII. — On répète la même expérience en substituant à l'ovalbumine du sérum de cheval dilué de moitié : *a*) un des échantillons est additionné de 2 c. c. de la solution de papaïne à 2 0/0; l'autre *b*) de la même quantité de la solution du ferment préalablement bouillie; tous deux sont maintenus pendant 10 minutes à la température du laboratoire, puis amenés par addition d'alcool au titre alcoolique de 70 0/0. Les précipités obtenus après dessiccation pèsent :

<i>a</i>)	352 mgr
<i>b</i>)	354 mgr

Un échantillon *c*) identique au premier porté rapidement à 100°, puis amené après refroidissement au titre alcoolique de 70 0/0 ne donne qu'un précipité pesant 142 mgr.

Dans cette expérience comme dans la précédente, les filtrats des échantillons *a*) ne donnent, après évaporation de l'alcool, qu'une légère coloration bleu violet, lorsqu'on essaie sur eux la réaction du biuret. Les filtrats des échantillons *c*) donnent au contraire la coloration rose caractéristique des peptones, même après dilution très forte des liquides originaux.

On peut donc conclure de ces expériences que les produits de digestion qui apparaissent dans les filtrats des mélanges soumis à la coagulation par la chaleur ne se forment pas, au moins en un espace de temps très court, aux températures ordinaires.

On pourrait objecter avec raison que ces expériences ne prouvent pas d'une façon absolue qu'il ne se fait aucune transformation aux températures ordinaires. Au titre où nous l'avons employé, l'alcool ne permet pas, en effet, la séparation complète des produits de digestion et des matières albuminoïdes qui leur ont donné naissance. Les hétéroprotéoses, par exemple, en raison de leur faible solubilité ne peuvent être séparées directement en utilisant ce réactif. Nous savions, à vrai dire, que ces produits n'existent pas ou ne se trouvent qu'en quantité très faible dans les filtrats des mélanges soumis à la coagulation. Mais on pouvait supposer qu'ils se forment à la température ordinaire et qu'ils sont transformés en produits plus avancés, d'où plus solubles, lors du passage des mélanges à une température plus élevée. Ce fait serait d'ailleurs de peu d'importance et ne modifierait guère la conclusion générale qu'on peut déjà tirer de ces expériences, à savoir que la plus grande partie du phénomène de digestion que nous avons observé se produit brusquement à haute température.

Précipitation par l'acide trichloracétique. — Nous avons cependant réussi à lever tous les doutes en ayant recours à une méthode qui, à elle seule, permet de démontrer qu'aux températures ordinaires aucune digestion ne se produit. Cette méthode, basée sur l'emploi de l'acide trichloracétique, a déjà été employée dans le but de séparer plus complètement que par le chauffage en milieu faiblement acide, les albuminoïdes naturels de leurs produits de transformation. Martin (1), dont nous avons exactement suivi les indications, a fait une étude détaillée de cette méthode, qu'il a d'ailleurs appliquée à la recherche des albumoses et des peptones

(1) MARTIN, *Journal of Physiology*, t. XV, p. 375.

dans le sang. Nous nous sommes à nouveau assuré de sa validité au point de vue de la séparation des différents produits en utilisant des mélanges artificiellement préparés. Voici la technique qu'il convient d'employer.

De l'acide trichloracétique à 10 0/0 est ajouté à volume égal aux liquides à éprouver. Il se forme immédiatement un abondant précipité qui renferme toutes les matières albuminoïdes originelles et une minime fraction des albumoses s'il en existe dans les liquides; ces dernières étant totalement solubles à chaud dans le liquide acide, il suffit d'une courte ébullition suivie immédiatement de la filtration du liquide bouillant pour les séparer complètement des matières albuminoïdes naturelles qui restent précipitées.

On voit que cette méthode comporte, pour la séparation des matières albuminoïdes, une ébullition comme la méthode que nous avons utilisée dans nos premières expériences et on pouvait craindre *a priori* qu'elle ne donne les mêmes résultats. Les conditions dans lesquelles on opère diffèrent cependant par l'acidité considérable du milieu et la nature de l'acide employé et l'on pouvait penser que dans ces conditions le ferment est mis dans l'impossibilité d'agir pendant le chauffage. L'expérience prouve qu'il en est bien ainsi et démontre du même coup qu'il n'y a aucune digestion aux températures ordinaires. En portant à la température d'ébullition, après addition d'acide trichloracétique, deux échantillons dont l'un renferme le mélange de sérum et de papaïne active, l'autre le mélange de sérum et de papaïne chauffée, on obtient dans les deux échantillons le même poids de matières coagulées comme le montrent les quelques expériences suivantes :

EXP. IX. — Un mélange *a*) contenant 15 c. c. d'albumine d'œuf diluée au 1/3 et 5 c. c. de la solution de papaïne à 20 0/0 est porté après addition de 2 gouttes d'acide acétique à la température de 100°. Après quelques instants, on ajoute un volume égal d'acide trichloracétique à 10 0/0, et l'on fait bouillir à nouveau. On jette le liquide bouillant sur un filtre taré, on lave d'abord avec une solution trichloracétique, puis à l'eau distillée bouillante. Le précipité est jeté sur un filtre taré et desséché jusqu'à constance du poids.

Un mélange *b*) identique au premier est additionné d'emblée d'acide trichloracétique, soumis à la température d'ébullition, puis traité comme le précédent.

Un troisième mélange *c*) dans lequel la papaïne active a été remplacée par du ferment préalablement bouilli, est également précipité d'emblée par l'acide trichloracétique, puis porté à 100° et traité comme les deux précédents.

Les trois précipités donnent respectivement les poids suivants :

<i>a</i>)	347 mgr
<i>b</i>)	580 mgr
<i>c</i>)	573 mgr

Exp. X. — On répète l'expérience précédente en substituant à l'albumine d'œuf du sérum de cheval dilué au 1/3; les mélanges *a*) et *b*) renfermant 15 c. c. de sérum et 2 c. c. de la solution de papaïne à 2 0/0. Dans le mélange *c*) on a remplacé la papaïne active par une quantité égale de la solution de ferment préalablement bouillie.

a) est coagulé par la chaleur en milieu faiblement acétique, puis additionné d'acide trichloracétique, bouilli à nouveau et filtré à chaud.

b) est additionné d'emblée d'acide trichloracétique et porté ensuite à l'ébullition.

c) est traité exactement comme le précédent.

Les pesées des précipités ont donné les chiffres suivants :

<i>a</i>)	190 mgr
<i>b</i>)	437 mgr
<i>c</i>)	432 mgr

On peut remarquer que, dans cette expérience comme dans la précédente, le poids du précipité de l'échantillon témoin *c*, c'est-à-dire de l'échantillon contenant la papaïne chauffée, est légèrement inférieur à celui de l'échantillon contenant la papaïne active et précipité d'emblée comme le précédent par l'acide trichloracétique. On verra plus loin que ce fait s'explique par une digestion brusque des albuminoïdes naturels associés au ferment, digestion qui se produit lors du chauffage préalable de la solution de papaïne. C'est pour la même raison que dans l'expérience VI la quantité d'azote coagulable du précipité de l'échantillon *c* s'est montré un peu plus faible que celle de l'échantillon *b*.

C'est donc bien pendant le court passage de la température du laboratoire à la température d'ébullition que se fait la digestion si intense que nos premières expériences avaient mise en évidence. *En fait le procédé généralement employé pour arrêter un phénomène de protéolyse et en mesurer l'effet se trouvait être dans le cas particulier la véritable cause déterminante de la digestion observée.*

Une expérience d'ailleurs très simple peut donner une idée de

la rapidité surprenante avec laquelle peut s'effectuer à température élevée le phénomène de protéolyse que nous étudions. Dans toutes les expériences citées jusqu'ici, le temps que mettent les mélanges pour passer de la température ordinaire à 100° est petit, mais mesurable. Si, au contraire, nous projetons un tel mélange par gouttes isolées dans l'eau acidulée bouillante, l'élévation de température est pour ainsi dire instantanée. Cependant, on observe encore dans ces conditions une digestion appréciable. Celle-ci est toutefois d'autant plus faible que les gouttes sont plus petites et plus espacées, mais elle n'est jamais rigoureusement nulle.

III. — CONDITIONS ET LIMITES DE TEMPÉRATURE DANS LESQUELLES SE PRODUIT LA DIGESTION BRUSQUE. ESSAI D'INTERPRÉTATION.

Il n'entre pas dans notre plan d'étudier en détail les conditions dans lesquelles peut se manifester l'activité de la papaïne. Nous voudrions seulement pouvoir déterminer les causes de la brusquerie par laquelle le phénomène que nous avons signalé se différencie des autres phénomènes de digestion étudiés jusqu'ici.

Un caractère qui distingue certainement la digestion brusque est la température élevée à laquelle elle se produit. Nos précédentes expériences ont établi en effet que, que dans les conditions où nous nous étions placé, cette digestion ne débute qu'au-dessus de 40° et l'on pouvait assez facilement être amené à penser que la majeure partie de la transformation ne s'accomplit qu'à des températures bien plus élevées encore. Il paraissait donc désirable de préciser avant tout le rôle que peuvent jouer les diverses températures auxquelles sont successivement soumis les mélanges d'albumine et de ferment que l'on amène rapidement à la température d'ébullition.

Le procédé qui se présente naturellement à l'esprit pour faire cette étude est de répéter sur plusieurs échantillons l'expérience

de digestion brusque en arrêtant, pour chacun d'eux, l'action du ferment au moment où le mélange passe par une température convenablement choisie. Pratiquement, on est amené à modifier un peu la technique : on chauffe les mélanges, placés dans un tube à parois minces, dans un bain de température réglée et l'on arrête l'action dès qu'ils ont atteint la température choisie. En opérant de cette manière, le chauffage n'est évidemment pas aussi rapide que dans les expériences précédentes où l'on chauffait à feu nu et les derniers degrés sont surtout lents à franchir malgré la précaution prise de tenir le bain à une température un peu supérieure à celle qu'on veut atteindre. Bien que les quantités de matière digérée soient certainement un peu plus grandes, pour chaque température, que dans l'expérience schématique imaginée tout d'abord, les rapports de ces quantités pour deux températures, de part et d'autre identiques, ne doivent pas être fortement modifiés (1).

Exp. XI. — On fait une série de mélanges contenant 10 c. c. d'albumine d'œuf diluée de moitié et 3 c. c. de solution de papayotine à 2 0/0; ces mélanges sont portés dans une série de bains réglés à des températures progressivement croissantes; les bains sont à 5° environ au-dessus des températures auxquelles on se propose d'arrêter l'action. Quand la température voulue est atteinte, on ajoute rapidement à chaque échantillon un volume égal d'acide trichloracétique à 10 0/0, on porte jusqu'à 100°, on recueille les précipités sur des filtres tarés, on lave d'abord avec la solution d'acide trichloracétique chaude, puis avec de l'eau bouillante. Les précipités desséchés jusqu'à constance de poids donnent les résultats ci-dessus.

Dans cette expérience, on constate que la digestion ne commence réellement à se manifester qu'au voisinage de 65°. A peine marquée à cette température, elle augmente notablement à 75° et subit un accroissement très considérable entre 80° et 90°. Lorsque la température d'arrêt est supérieure à 90°, la quantité totale de matière digérée diminue légèrement. Ce n'est pas qu'au delà de cette température l'action du ferment ne puisse se continuer au moins pendant le temps très court où il reste en contact avec la matière albuminoïde, mais parce que, avec la technique em-

(1) Il n'en serait pas ainsi pour les températures les plus élevées pour lesquelles la vitesse de passage par les températures intermédiaires joue un rôle important (voir dans l'expérience ci-dessous le résultat obtenu pour la température de 95°).

TEMPÉRATURES ATTEINTES	POIDS des précipités	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin.....	558 milligr.	"
45°.....	555 milligr.	"
50°.....	557 milligr.	"
55°.....	552 milligr.	"
60°.....	550 milligr.	"
65°.....	546 milligr.	12 milligr.
70°.....	535 milligr.	23 milligr.
75°.....	488 milligr.	72 milligr.
80°.....	351 milligr.	207 milligr.
85°.....	312 milligr.	246 milligr.
90°.....	280 milligr.	338 milligr.
95°.....	301 milligr.	257 milligr.

ployée, la zone comprise entre 75° et 90° qui est la plus favorable à la digestion est beaucoup plus rapidement franchie que lorsque les températures de 80°, 85° et 90° sont prises comme températures d'arrêt. Il résulte des données précédentes que dans les chauffages instantanés, la majeure partie de la transformation observée se produit au voisinage de 80°-90°. Pour donner une idée de la rapidité de la digestion à ces températures, nous dirons que, dans l'expérience ci-dessus, le temps de passage entre 75° et 90°

n'était que de 20 secondes environ, 90° étant la température d'arrêt.

On peut d'ailleurs mettre en évidence d'une façon particulièrement nette le rôle de ces températures en modifiant l'expérience de manière à exagérer l'effet de la température maxima atteinte dans chaque cas. Il suffit pour cela de maintenir les mélanges à ces températures pendant un temps donné. On constate, que, dans ces conditions, la quantité de matière transformée, en 10 minutes par exemple, au voisinage de 80°-90°, est toujours nettement plus considérable que celle qu'il est possible d'obtenir en prolongeant pendant le même temps l'action du ferment à des températures plus élevées.

EXP. XII. — On fait comme dans l'expérience précédente une série de mélanges contenant 10 c. c. d'albumine d'œuf diluée de moitié et 3 c. c. de papaine à 2 0/0; ces mélanges sont chauffés par groupe de deux dans une série de bains dont la température est supérieure de 5° à celle que l'on veut atteindre; dès que cette température est obtenue, on précipite aussitôt dans l'un d'eux (1^{re} série) les albuminoïdes par un volume égal d'acide trichloracétique à 10 0/0. L'autre (2^e série) est en même temps porté dans

TEMPÉRATURES	QUANTITÉ d'albumine digérée. (1 ^{re} série)	QUANTITÉ d'albumine digérée. (2 ^e série.)
Témoin	584 milligr.	»
65°	18 milligr.	37 milligr.
70°	24 milligr.	45 milligr.
75°	89 milligr.	246 milligr.
80°	184 milligr.	391 milligr.
85°	244 milligr.	422 milligr.
90°	292 milligr.	415 milligr.
95°	270 milligr.	353 milligr.

un autre bain réglé exactement à la température choisie et y est maintenu pendant dix minutes, puis traité comme le précédent. Les chiffres du tableau suivant indiquent parallèlement pour ces diverses températures maxima l'intensité de la digestion dans les deux séries d'échantillons.

Les résultats obtenus avec les échantillons de la première série corroborent ceux qui ont été fournis par l'expérience précédente. Si on les compare à ceux de la deuxième série, on constate que, pendant la période de température constante, le ferment continue à digérer très activement l'albumine à 80°-85° et même 90°. A 95°, bien que la quantité totale digérée pendant la période d'ascension diminue légèrement pour les raisons exposées plus haut, on voit que cependant le ferment conserve encore une activité notable. Nous verrons d'ailleurs plus loin que son action à cette température ne s'exerce, et avec une intensité décroissante, que dans les tout premiers instants. Il en résulte que son activité à cette température doit encore être considérable si on la limite à un temps initial suffisamment court.

En même temps que ces expériences montrent d'une manière très saisissante l'importance de la digestion au voisinage de 80°-90°, elles permettent d'observer facilement dans les mélanges en digestion une modification brusque d'aspect qui coïncide avec cette augmentation subite de l'activité du ferment : à une simple opalescence qui apparaît déjà vers 60°-65° et qui décèle évidemment un début de coagulation de la matière albuminoïde (globulines) succède, lorsqu'on atteint 80°, un trouble général du liquide, avec formation de grumeaux, qui correspond à la coagulation de l'albumine. C'est d'ailleurs vers cette même température que l'ovalbumine chauffée seule commence à se coaguler. Mais, à l'inverse de ce que l'on observe dans ce dernier cas, le début de coagulation en présence du ferment ne donne pas lieu à la formation de masses compactes; si la quantité de papaïne ajoutée est suffisante, le liquide se transforme même d'emblée en une masse homogène presque gélatineuse, grâce évidemment à la digestion qui intervient déjà d'une façon intense dans un espace de temps très court. Par chauffage à une température encore plus élevée, le liquide devient laiteux. Quand on précipite les mélanges par l'acide trichloracétique, on obtient un faible précipité granuleux au lieu du gros précipité floconneux que donnent les mélanges non digérés.

L'albumine portée brusquement à température élevée subit donc au voisinage de 80° un début de coagulation, une *dénaturation* à laquelle il faut vraisemblablement attribuer la rapidité avec laquelle elle subit l'attaque du ferment. Il est d'ailleurs facile de montrer expérimentalement que de l'albumine chauffée seule à 80°, en solution diluée, se laisse ensuite attaquer assez aisément par la papaine à 40°, température à laquelle l'albumine crue résiste très fortement à la digestion, ainsi que nous l'avons vu précédemment.

Si la papaine est incapable de digérer à des températures aussi élevées l'ovalbumine coagulée en masse, c'est que celle-ci, n'offrant qu'une faible surface d'attaque et se laissant difficilement imbiber, le ferment est fortement atténué ou même détruit avant d'avoir pu provoquer une transformation nettement appréciable. Au contraire, on peut retrouver le phénomène de digestion brusque en s'adressant à un albuminoïde coagulé mais dilué, de manière que la coagulation, au lieu de se faire en masse, donne un liquide laiteux tenant en suspension d'albumine à l'état très divisé. La digestion est cependant toujours moins intense avec l'albumine ainsi coagulée qu'avec l'ovalbumine naturelle.

La digestion brusque s'accomplit donc à haute température et surtout au voisinage de 80°-90°. Elle a pour cause, d'une part, l'activité que la papaine possède à cette température à l'exclusion des ferments protéolytiques animaux détruits bien au-dessous, d'autre part, le début de coagulation que l'albumine subit vers cette température et qui la livre à la fois dénaturée et à l'état de division extrême, à l'action du ferment qui lui est intimement mêlé.

En somme, ce n'est pas de l'albumine crue qui est digérée par la papaine au voisinage de 80°, mais de l'albumine déjà dénaturée par la chaleur.

Il est vraisemblable que la transformation partielle qui se produit dans le phénomène de digestion brusque au-dessous de cette température n'a lieu qu'à la faveur d'une dénaturation de la petite quantité de globulines contenues dans le blanc d'œuf. On sait en effet que ces substances subissent la coagulation par la chaleur à des températures plus basses que l'ovalbumine proprement dite.

On a choisi, comme type pour ces expériences, l'ovalbumine,

parce que des essais préliminaires ont montré que les résultats obtenus sont en grandeur plus réguliers que ceux que donne le sérum sanguin. Avec le sérum, en effet, l'intensité et aussi, dans une certaine mesure, la marche de la digestion varient avec l'espèce animale. Ces variations tiennent certainement pour une grande part à des différences de composition et aussi de coagulabilité des matières albuminoïdes. En règle générale, on observe d'ailleurs, lorsqu'on s'adresse au sérum, que la transformation suit à partir des températures peu élevées une marche plus régulièrement progressive que celle de l'ovalbumine.

Les sérums étant infiniment plus riches que le blanc d'œuf en globulines, il est probable qu'une quantité plus grande de matière se trouve à des températures plus basses, dénaturée et par suite soumise à une brusque transformation. Aussi n'est-il pas étonnant qu'en s'adressant aux sérums, on ne retrouve pas toujours, vers 80°, la brusque croissance de digestion observée avec l'albumine d'œuf.

Exp. XIII. — Une série de mélanges contenant 10 c. c. de sérum de cheval dilué de moitié et 2 c. c. de solution de papaïne à 2 0/0 sont portés dans des bains réglés à des températures différentes où ils sont maintenus pendant 10 minutes. Au bout de ce temps ils sont traités par de l'acide trichloracétique suivant la technique habituelle.

TEMPÉRATURES d'action.	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin	429 milligr.	"
56°.....	306 milligr.	123 milligr.
60°.....	251 milligr.	178 milligr.
65°.....	212 milligr.	217 milligr.
72°.....	153 milligr.	276 milligr.
80°.....	134 milligr.	295 milligr.

Certains sérums, très attaquables par digestion brusque, à des températures relativement peu élevées, se laissent même digérer assez rapidement à l'étuve à 40°. Le sérum de lapin, par exemple, peut, toutes conditions égales d'ailleurs, être digéré d'une façon très appréciable en quelques heures à 40°. Mais ce n'est pas ce que l'on observe le plus habituellement. L'expérience suivante, faite avec le sérum du cheval qui semble présenter une résistance moyenne à l'activité de la papaïne, nous fournit d'ailleurs un exemple de la marche d'une digestion des albuminoïdes du sérum à la température de 40°.

EXP. XIV. — A 40 c. c. de sérum de cheval dilué de moitié d'eau physiologique et filtrée sur bougie Berkefeld, on ajoute 10 c. c. de solution de papaïne à 2 0/0 également filtrée sur bougie; on porte à l'étuve à 40° et on fait à divers intervalles des prises aseptiques de 10 c. c; on précipite d'emblée les albuminoïdes coagulables par un volume égal d'acide trichloracétique à 10 p. 0/0 en employant la technique habituelle. Un échantillon précipité au point de départ sert de témoin.

Le tableau ci-dessous indique l'intensité de la digestion à 40° au bout de temps variables.

DURÉE DE SÉJOUR à 40°.	POIDS des précipités.	QUANTITÉ d'albumine digérée.
Témoin.....	342 milligr.	»
1 heure.....	331 milligr.	11 milligr.
5 heures.....	318 milligr.	24 milligr.
24 heures....	287 milligr.	55 milligr.
48 heures....	264 milligr.	78 milligr.

Il est intéressant de signaler ici que le phénomène de digestion brusque peut être également observé avec des albuminoïdes naturels d'origine végétale. Un cas particulier, intéressant à notre

point de vue, est précisément celui de la solution de papaïne prise seule et chauffée brusquement. Au ferment sont en effet associés dans le latex et dans la préparation commerciale dont nous nous sommes servis, des matières albuminoïdes coagulables qui se digèrent presque complètement par chauffage brusque : les auteurs ont généralement été induits en erreur par cette digestion et ont été conduits à penser que le ferment était, à l'état naturel, associé presque exclusivement à des albumoses ou à des peptones. Nous aurons l'occasion d'insister un peu plus loin sur l'intérêt que présente, au point de vue de notre étude, ce phénomène que nous nous bornons à signaler ici très brièvement.

*
* * *

A côté de la digestion de la matière albuminoïde se produit un autre phénomène qui limite le premier, c'est la destruction du ferment. Bien qu'elle soit plus résistante à l'action de la chaleur que les autres diastases protéolytiques, la papaïne chauffée seule ne supporte que pendant quelques minutes les températures supérieures à 90°. A 100°, elle est même détruite presque instantanément. Sa destruction rapide à ces températures se produit également en présence de l'albumine : c'est ce qui explique que si l'on prolonge l'action du ferment, les digestions sont à partir de 90° d'autant plus faibles que la température à laquelle on opère est elle-même plus élevée.

Déjà vers 85°, par exemple, où l'on observe une digestion considérable, quand on se borne à élever rapidement les mélanges jusqu'à cette température, l'action ne se continue guère que pendant quelques minutes, et décroît rapidement de minute en minute. La période totale d'activité est encore plus courte et la décroissance plus rapide si l'on considère des températures plus élevées.

Ce fait est facile à mettre en évidence en portant dans des bains à température réglée une série de mélanges dont on arrête l'action de deux en deux minutes, à partir du moment où la température choisie est atteinte. Inutile de faire remarquer qu'il est nécessaire pour donner à l'expérience toute sa valeur démonstrative de ne pas employer des quantités trop fortes de ferment

qui pourraient provoquer d'emblée la transformation de la plus grande partie de la matière à digérer.

Exp. XV. — On fait une série de mélanges d'albumine d'œuf diluée de moitié (10 c. c.) et de solution de papaïne à 2 0/0 (2 c. c.).

Les mélanges, rapidement amenés comme précédemment aux températures qu'on veut atteindre, sont portés dans des bains réglés respectivement à ces températures (85° et 95°). Dès que la température maxima est atteinte, on ajoute à l'un des mélanges de chaque série un volume égal d'acide trichloracétique à 10 0/0. La même opération est répétée de deux en deux minutes sur les autres échantillons; tous sont alors portés à l'ébullition et filtrés à chaud. Les précipités traités comme précédemment donnent les poids indiqués dans le tableau ci-contre.

DURÉE DE SÉJOUR à température constante.	QUANTITÉ d'albumine digérée (85°).	QUANTITÉ d'albumine digérée (95°).
Témoins.....	598 milligr.	593 milligr.
Période d'ascension.....	206 milligr.	237 milligr.
2 minutes	354 milligr.	299 milligr.
4 minutes	384 milligr.	308 milligr.
6 minutes	398 milligr.	313 milligr.
8 minutes	409 milligr.	312 milligr.
12 minutes	415 milligr.	309 milligr.
16 minutes	418 milligr.	314 milligr.

Il n'est pas douteux que la marche très particulière de ce phénomène ne doive être rapportée à une destruction rapide du

ferment au voisinage des températures où il manifeste pour ainsi dire instantanément une activité considérable.

Cette destruction rapide de la papaïne ne nous arrêterait pas davantage si nous ne savions d'autre part que ce ferment, mis en présence de l'ovalbumine et du sérum naturels, subit une destruction déjà intense aux températures ordinaires.

On se rappelle que c'est à cette destruction de la papaïne en présence de la matière albuminoïde que nous avons été tenté de rapporter provisoirement la régression apparente de la digestion, observée dans nos premières expériences. Nous montrerons plus loin que cette destruction paraît bien due à une action spécifique des liquides albuminoïdes naturels; déjà intense à la température du laboratoire, elle s'accuse au fur et à mesure que la température s'élève à 40° par exemple, où il peut cependant se produire à la longue une faible digestion, l'atténuation du ferment est déjà plus rapide qu'à 20°. A des températures encore plus élevées, à 50°-60° par exemple, l'atténuation se marque davantage encore, bien que la puissance digestive du ferment croisse très vite. L'expérience montre, en effet, qu'un mélange d'albumine du sérum et de papaïne préalablement soumis à la température de 56° et porté ensuite brusquement à 100° donne au total une digestion moindre qu'un mélange semblable fait en même temps, mais porté d'emblée de la température du laboratoire à celle de 100°.

Exp. XVI. — On fait 2 mélanges contenant 15 c. c. de sérum de bœuf dilué au tiers et 4 c. c. de papaïne à 4 0/0. L'un des mélanges *a*) est porté d'emblée à la température d'ébullition en milieu légèrement acétique. L'autre *b*) est traité de la même façon après avoir été porté au préalable à la température de 56° pendant 10 minutes; un troisième échantillon *c*) identique aux précédents, mais dans lequel on a remplacé la solution de papaïne par une égale quantité de ferment préalablement bouilli sert de témoin. Les chiffres ci-dessous indiquent le poids des précipités obtenus :

<i>a</i>)	60 mgr
<i>b</i>)	71 mgr
<i>c</i>)	321 mgr

Il est certain qu'à des températures plus élevées, l'ovalbumine ou le sérum, chauffés un certain temps, perdent leur pouvoir d'atténuer l'activité du ferment. Porté à 80° pendant une

heure, le sérum, par exemple, se laisse non seulement attaquer aisément à la température de 40°, comme nous l'avons dit plus haut, mais il a perdu totalement ou presque totalement la propriété d'atténuer, par contact à cette température, l'activité de la papaïne. Ainsi la dénaturation, qui rend l'albumine plus attaquable, la prive en même temps de son pouvoir destructeur pour le ferment.

Nous ne savons pas toutefois si cette propriété de la matière albuminoïde se perd brusquement aux températures élevées, et par suite dans quelle mesure cette action spécifique des substances à digérer peut intervenir dans le phénomène de la digestion brusque, concurremment avec les agents ordinaires de destruction (chaleur, réaction de milieu), pour limiter à haute température l'action du ferment. Quoi qu'il en soit, la rapidité de cette destruction est assez grande aux températures supérieures à 80°-85° pour limiter presque au phénomène de digestion instantanée, d'ailleurs considérable, l'action de la diastase à haute température.

*
* *
*

En somme, *le phénomène de digestion brusque nous apparaît comme la résultante d'une série d'actions exercées par les températures élevées sur le ferment et la matière à digérer.* La papaïne, qui est capable de développer à ces températures une activité considérable, se trouve intimement mêlée à des substances que la chaleur modifie brusquement et rend dès lors très faciles à attaquer. A température élevée, le ferment perd rapidement, il est vrai, son action protéolytique, mais dans la lutte de vitesse qui s'engage entre la digestion et la destruction du ferment, l'avantage reste toujours à la digestion quelle que soit la rapidité avec laquelle l'on franchisse ou l'on dépasse les températures qui semblent lui être le plus favorables.

La rapidité avec laquelle la papaïne peut manifester son action tient à ce que, dans les conditions de nos expériences, elle n'agit, ni sur une albumine vraiment crue, ni sur la même substance coagulée en masse par la chaleur, mais sur le corps *en voie de coagulation*, ayant perdu la résistance spéciale qu'il doit à son état naturel, n'ayant pas atteint cette compacité physique

qui lui permet de n'offrir au ferment qu'une surface d'attaque minime.

On sait que les albuminoïdes naturels sont en général très résistants à l'action des ferments protéolytiques, qu'un début de coagulation (par les acides, la chaleur, etc.), les rend plus facilement attaquables; *l'activité particulière de la papaïne, dans les conditions où nous sommes placé, tient précisément à ce qu'elle est, à l'inverse des autres ferments, plus thermolabiles, très active aux températures qui commencent à coaguler les albuminoïdes.*

(A suivre.)

Traitement des trypanosomiasés chez les chevaux

(Souma et trypanosomiasé des chevaux de Gambie) par l'orpiment
seul ou associé à l'atoxyl.

PAR MM. A. THIROUX ET L. TEPPAZ

(Travail du laboratoire de Saint-Louis (Sénégal))

Malgré le très grand nombre des travaux publiés, durant ces dernières années, sur les trypanosomiasés, les essais de traitement de ces affections, sauf ceux qui concernent la trypanosomiasé humaine, ne sont guère sortis du laboratoire. Pour retrouver ces essais, dans la pratique, chez les gros animaux, il faut remonter à des faits déjà anciens.

En 1899, Lingard (1), dans l'Inde, a traité 21 chevaux atteints de Surra, par l'acide arsénieux, un seul a guéri. Cet auteur conseille de donner 0^{gr},80 d'acide arsénieux aux chevaux tous les jours, pendant deux mois, et ensuite de l'iodure double d'arsenic et de quinine pendant six mois.

Pendant l'épizootie de Maurice, un grand nombre de médications ont été expérimentées sans succès contre le Surra des chevaux (2) : quinine, acide arsénieux, liqueur de Fowler, cacodylate de soude, arrhénal, injections intra-veineuses de sublimé.

Bruce (3), au Zouloulant, suivant la méthode employée par Lingard, a essayé l'acide arsénieux sur les chevaux et les ânes atteints de Nagana. Il donne 0^{gr},40 à 0^{gr},80 d'acide arsénieux en solution, sous forme d'arsénite de soude. Les trypanosomes disparaissent le plus souvent du sang, et n'y reparaissent pas

(1) LINGARD, *Report on Surra*, vol. II, part. 1. Bombay, 1899, p. 61

(2) LAVERAN et MESNIL, *Trypanosomes et Trypanosomiasés*. Paris, 1906, p. 247.

(3) D. BRUCE, *Rapports sur le Nagana*, 1895 et 1896.

tant que les animaux sont soumis au traitement, mais il arrive un moment où la médication n'est plus supportée et les parasites réapparaissent alors dans le sang.

Trélut aurait obtenu quelques succès en donnant 3 à 6 grammes par jour d'acide arsénieux à des chevaux dourinés. Archangel'sky et Novikoff prétendent aussi avoir guéri des étalons dourinés avec des injections d'arséniate de soude ou d'acide cacodylique (1).

Mauhal (2) aurait également guéri cinq étalons dourinés par des injections sous-cutanées de 1 gramme de cacodylate de soude ou d'acide cacodylique.

Plus récemment, Thomas et Breinl (3) ont donné 2 grammes d'atoxyl 2 fois par semaine à un cheval inoculé de Surra. Les parasites ont disparu, l'animal a engraisé, et le nombre de ses hématies a augmenté.

Les expérimentateurs ne disent pas s'il a guéri. Il est probable qu'il n'en est rien, car Hallot (4), au Tonkin, vient de traiter sans succès par l'atoxyl un cheval atteint d'une trypanosomiase qui semble être le Surra.

Monod (5), en Algérie, a bien guéri un cheval douriné par des injections d'atoxyl, mais nous ferons remarquer que la dourine, chez les chevaux, semble plus facilement curable que les autres trypanosomiasés, car, d'après un grand nombre d'auteurs, elle serait traitée avec succès par des sels d'arsenic dont l'action a été vérifiée insuffisante dans d'autres trypanosomiasés.

Il paraît, au premier abord, peu intéressant de guérir les gros animaux, parce que ces animaux, une fois guéris, n'acquièrent aucune immunité et se réinfectent rapidement s'ils continuent à vivre dans les pays où ils ont été contaminés. Cependant, dans un grand nombre de colonies, et en particulier au Sénégal, les trypanosomiasés ne sont endémiques que dans des régions assez limitées, qui constituent des *fly-belts*. Soit par

(1) LAYERAN et MESSIL, *loc. cit.*, p. 233.

(2) *Rec. de méd. vétér.*, 15 avril 1903, p. 230, et 15 avril 1904, p. 235.

(3) THOMAS et BREINL, Trypanosomes, Trypanosomiasés and Sleeping Sickness. *Liverpool school of trop. med.* Mém. XVI, oct. 1905, p. 56.

(4) HALLOT, Maladie à Trypanosomes des chevaux du Tonkin. *Revue gén. de méd. vétér.*, 15 août 1908, p. 143-146.

(5) MONOD, La dourine au dépôt de remonte de Constantine, 1907. Guérison d'un étalon traité par l'atoxyl. *Rec. de méd. vétér.*, 30 juin 1908, p. 303.

ignorance, soit par nécessité, on peut être amené à faire traverser ces *fly-belts* par des animaux de transport ou des troupes en marche, et pour ces dernières il peut y avoir nécessité absolue de passer sur certains territoires infectés.

[Il arrive, en effet, fréquemment, que des animaux séjournant habituellement dans une région indemne, se contaminent au moment de la traite des arachides par suite des déplacements que sont obligés de faire les commerçants. Les chevaux achetés pour la remonte des troupes de cavalerie proviennent quelquefois de régions infectées ou en ont traversé. Quelques-uns d'entre eux peuvent, même malgré une visite minutieuse, être achetés étant récemment infectés, comme le cas s'est produit pour l'escadron de spahis de Saint-Louis. Cet escadron reçut, au moins de juin 1908, vingt chevaux provenant de Koulikoro, point situé sur la boucle du Niger. Sur ces vingt chevaux, examinés dès leur arrivée, deux furent reconnus contaminés par *Tr. dimorphon*. D'autre part, les opérations de police effectuées en Mauritanie nous contraignent à entretenir des animaux dans un pays où il existe des points très nombreux où ils sont facilement infectés par *Trypanosoma Evansi* ou *Tr. soudanense*. Les pertes qu'y subissent nos effectifs de cavalerie sont, chaque année, très sérieuses, et les bœufs ou les chameaux employés aux transports sont également très éprouvés. La valeur marchande d'un cheval justifiera toujours les dépenses faites pour le traitement, même si l'on emploie l'atoxyl, à plus forte raison si l'orpiment seul suffit.

Le général Audéoud, commandant en chef les troupes de l'Afrique occidentale française, le colonel Gouraud, commissaire du gouvernement général en Mauritanie, se sont beaucoup intéressés à la question, et deux commerçants de Tivaouane, dont les chevaux s'étaient contaminés au cours de voyages d'affaires, à Nianing, nous ont demandé de traiter leurs animaux. Il y a donc un assez gros intérêt économique, et chacun semble le reconnaître au Sénégal, à s'occuper du traitement des trypanosomiasés des chevaux, dans les colonies où l'endémie n'occupe pas tout le territoire ou lorsqu'elle est assez restreinte pour que ces animaux soient encore employés malgré les pertes occasionnées par la maladie.

Ainsi que nous l'avons déjà signalé à propos des trypano-

somias animales sur la Petite Côte et dans la région des Niayes, au Sénégal (1), ces colonies sont surtout celles où il existe une saison sèche assez longue, pendant laquelle les mouches disparaissent presque complètement et où les animaux ne se contaminent que pendant la saison des pluies, qui coïncide avec la pullulation des diptères infectants.

L'opportunité d'un traitement des trypanosomias chez les chevaux et les gros animaux de transport est plus discutable dans les colonies où il n'existe pas de saison sèche de longue durée et où l'endémie est telle que ces animaux disparaissent presque complètement. Il est à craindre que les réinfections y soient tellement fréquentes qu'il faille plutôt recourir à un traitement préventif ou, à son défaut, à une médication curative presque constante, interrompue par des périodes de repos ne dépassant pas la durée de l'incubation, de façon à toujours agir sur les réinfections dès qu'elles se produisent.

Les chevaux que nous avons eu à traiter proviennent de trois régions différentes. L'un d'eux appartient à l'escadron de spahis, il a été infecté au cours d'une campagne en Mauritanie par un trypanosome se rapprochant morphologiquement de *Tr. Evansi* ou de *Tr. soudanense*, et qui a été envoyé à M. le professeur Laveran pour détermination. Deux autres chevaux, appartenant également à l'escadron de spahis, ont été, comme nous l'avons dit, achetés dans la boucle du Niger pour la remonte de cet escadron et reconnus infectés de *Tr. dimorphon*. Enfin, trois chevaux appartenant à deux commerçants de Tivaouane nous ont été confiés pour être traités, ces chevaux avaient été infectés par *Tr. Cazalboui*, au cours d'un voyage à Nianing.

Nous avons donc eu à traiter, chez six chevaux, trois trypanosomias différentes.

La médication employée est celle qui a donné à M. le professeur Laveran et à l'un de nous (2) des résultats très encourageants sur les cobayes. C'est le traitement par le trisulfure d'arsenic ou orpiment précipité, seul ou associé à l'atoxyl (traitement mixte). Ce dernier traitement nous ayant donné les meilleurs résultats chez les cobayes, c'est par lui que nous

(1) THIROUX, WURTZ et TEPFAZ, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 25 août 1908.

(2) LAVERAN et THIROUX, Recherches sur le traitement des trypanosomias. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, fév. 1908.

avons commencé. Il a toujours été suivi de succès, quel que soit le trypanosome. Le traitement à l'orpiment seul n'a été essayé que sur deux chevaux atteints de Souma, il ne nous a donné aussi que des résultats positifs.

L'atoxyl a été administré selon le mode ordinaire en injections de 5 grammes du médicament, mis en solution dans 50 grammes d'eau stérilisée. L'injection, faite sous la peau de l'encolure, a quelquefois occasionné de petites indurations, mais il n'y a jamais eu d'abcès.

D'autre part, nous avons déterminé que pour un cheval de la taille des chevaux arabes ou des chevaux du pays, dits Baiards, la dose d'orpiment nécessaire pour faire disparaître les trypanosomes de la circulation dans les vingt-quatre heures est de 15 grammes. Les premières doses d'orpiment occasionnent souvent une diarrhée assez intense. Nous conseillons d'espacer les prises de médicament, et, dans le cas où la diarrhée se prolongerait, de remplacer une dose d'orpiment par une injection de 5 grammes d'atoxyl. Il sera très rare que l'on soit obligé de remplacer ainsi deux doses successives d'orpiment, la seconde n'occasionnant généralement qu'une diarrhée très légère et passagère; mais on ne devra élever la quantité administrée que lorsque le médicament sera parfaitement toléré. On pourra alors donner d'abord 20 et ensuite 25 grammes de trisulfure d'arsenic, mais on ne devra pas dépasser cette quantité.

L'orpiment a été donné par la voie stomacale en bols ou en électuaires. Les bols sont composés d'orpiment mélangé à de la mélasse, du miel ou à une solution de gomme épaisse, ils sont amenés à une consistance pâteuse au moyen de poudre de réglisse, de lycopode, ou plus simplement de farine, et ils sont roulés dans ces poudres comme de grosses pilules. Pour les administrer, on les pique à l'extrémité de petites branches flexibles, on fait ouvrir la bouche du cheval par un aide, et on les porte rapidement, d'un seul coup, jusque dans le pharynx, à la base de la langue. La boule enfarinée, composant le bol, doit être assez peu adhérente à la baguette pour se détacher facilement et rester dans le gosier. Il arrive que les chevaux, au bout de quelques séances, deviennent de plus en plus difficiles à manier, qu'ils se cabrent, reculent et, contractant leur oesophage, rejettent le bol; dans ce cas, on peut essayer de leur donner l'orpiment

en barbotage, mélangé à du son mouillé, mais ils en laissent le plus souvent une partie, et il vaut mieux leur donner le médicament en électuaire. L'électuaire est une sorte de confiture, composée de mélasse, de miel ou de solution de gomme épaisse, dans laquelle on incorpore le poids du médicament à absorber. On enduit la langue du cheval avec une petite quantité de cette mixture, l'animal salive et fait des mouvements de déglutition pour se débarrasser du corps collant qui compose l'électuaire. On arrive ainsi à lui faire absorber, par petites quantités, la totalité de l'orpiment à avaler.

On lui donne ensuite un peu de fourrage sec, dont les brindilles enlèvent ce qui reste dans la bouche. Il faut se garder de faire boire les animaux à ce moment, car l'électuaire se dissoudrait dans l'eau et une partie de l'orpiment s'en irait dans l'abreuvoir. Malgré ces précautions, il se perd, par cette méthode, une petite quantité du médicament, laquelle peut être évaluée au maximum, à 5 grammes, qui restent sur les mains de l'opérateur, sur la spatule, ou la paroi des récipients, aussi pensons-nous que, lorsqu'on administre l'orpiment en électuaire, on peut forcer les doses indiquées plus haut de 5 grammes.

Les animaux soumis au traitement mixte ont reçu :

15 grammes d'orpiment le 1^{er} jour, 5 grammes d'atoxyl le 3^e jour; 20 grammes d'orpiment le 5^e jour, 5 grammes d'atoxyl le 7^e jour; 25 grammes d'orpiment le 9^e jour, 5 grammes d'atoxyl le 11^e jour; 25 grammes d'orpiment le 13^e jour, 5 grammes d'atoxyl le 15^e jour; 25 grammes d'orpiment le 17^e jour, 5 grammes d'atoxyl le 19^e jour.

Les deux premiers chevaux traités ayant présenté une rechute 10 et 13 jours après la dernière dose d'arsenic, nous avons institué un second traitement chez ces animaux, et nous avons fait chez les suivants deux traitements séparés par 8 jours de repos, sans attendre la rechute.

Pour les chevaux traités à l'orpiment seul, nous avons suivi une marche analogue, nous avons institué deux traitements, séparés par 8 jours de repos. Chacun des traitements comprend sept ingestions d'orpiment, séparées cependant, dans ce cas, par 3 jours d'intervalle, afin de ménager la susceptibilité intestinale de l'animal : 1^{er} jour, 15 grammes d'orpiment; 4^e jour, 20 grammes; 7^e jour, 25 grammes; 10^e jour, 25 grammes;

13^e jour, 25 grammes; 16^e jour, 25 grammes; 19^e jour, 25 grammes; 8 jours de repos et second traitement.

OBSERVATIONS

1^o *Traitement mixte atoxyl et orpiment* (1)

Cheval n^o 1. — Appartenant à M. Baille, négociant à Tivaouane. C'est un très beau cheval de race maure. Il présente depuis quelque temps de la faiblesse de l'arrière-train, il s'essouffle rapidement après un léger travail, il maigrit; des œdèmes froids ont apparu au scrotum et aux membres. Pétéchies sur les conjonctives. L'animal a cohabité pendant quelques jours à Nianing, dans une paillotte mal close, avec un cheval atteint de la maladie de Nianing (Trypanosomiase). Il paraît avoir été contaminé par ce cheval, que nous n'avons pu retrouver quelque temps après, au cours d'un voyage d'études sur les trypanosomiasés, l'animal ayant été vendu pour une somme dérisoire par son propriétaire à des indigènes, qui l'avaient emmené dans la brousse.

Le cheval n^o 1, examiné à Thiès par l'un de nous, fut trouvé infecté de nombreux trypanosomes, doués d'un mouvement très rapide de translation, analogue à celui d'une flèche, sans presque aucun mouvement de reptation. Ainsi que nous l'avons observé depuis, ce caractère permet de présumer, d'une façon presque certaine, que le trypanosome observé est celui de la Souma ou *Tr. Cazalboui*. Les préparations colorées confirmèrent notre premier diagnostic, ainsi que les inoculations expérimentales : un mouton s'infecta, tandis qu'un chien et un chagal inoculés restèrent indemnes. L'animal, envoyé à Saint-Louis le 11 mars, fut mis immédiatement en traitement. — 12 mars. Trypan. nombreux. 5^{sr} atoxyl. — 13. Trypan. nombreux. — 14. Trypan. rares. A. G. notable. Les membres sont revenus à leur état normal. 8^{sr} orpiment. — 16. Trypan. nombreux. 15^{sr} orpiment. — 19. 0 trypan. A. G. forte. — 20. 0 trypan. 5^{sr} atoxyl. — 22. 0 trypan. 20^{sr} orpi-

(1) Le traitement de quelques animaux a été fait en partie par MM. Pécaud et Tricard, qui se sont succédé comme vétérinaires à l'escadron de spahis de Saint-Louis. Chacun de ces distingués praticiens a pu vérifier l'efficacité du traitement institué chez les chevaux, que leur départ ne leur a pas permis de suivre jusqu'au bout. Nous les remercions du précieux concours qu'ils nous ont apporté.

ment. — 23. Trypan. très rares. A. G. notable. — 24. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 27. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 30. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 1^{er} mai. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 10. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — L'animal va très bien et paraît complètement guéri. — 11, 12, 13, 15. 0 trypan. — 20. *Rechute*. Trypan. rares. — 24. 0 trypan. A. G. légère. 15^{gr} orpiment. — 26. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 28. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 30. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 2 juin. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 6. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 8. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 11. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 13. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. Du 13 juin au 10 juillet. 0 trypan. A. G. 0. Le cheval est renvoyé à cette date à son propriétaire, qui le réclame. Il est en excellent état, il s'est légèrement engraisé, il est gai, les membres sont nets, le scrotum ne présente plus d'œdème. Le 26 septembre, nous nous rendons à Trivaouane pour examiner les chevaux traités. Depuis sa sortie de l'infirmerie, le cheval n° 1 fait tous les jours un travail d'entraînement assez pénible, auquel le soumet son propriétaire. Il est en excellent état et présente seulement deux plaies au cou et au poitrail, dues à la lymphangite épizootique. 0 trypan. A. G. 0.

Cheval n° 2. — Palefroi. Cheval entier, 6 ans, appartient au peloton de spahis, détaché en Mauritanie.

Il est rentré à Saint-Louis en mars 1908. Examiné peu de temps après son arrivée, il est trouvé porteur de trypanosomes, que l'on peut, morphologiquement, rapprocher de *Tr. Evansi* ou de *Tr. soudanense*. L'inoculation au chien et au cobaye est positive. L'animal est dans un état général peu brillant, il est maigre, très anémié, et sa démarche est pénible. Pétéchies sur les conjonctives.

2 avril. Trypan. rares. 15^{gr} orpiment. — 4. Trypan. nombreux. 5^{gr} atoxyl. — 7. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 10. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 23. 0 trypan. A. G. 25^{gr} orpiment. — 25. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — Du 25 avril au 7 mai, 0 trypan. — 8 mai. Trypan. rares. — 12. Trypan. rares. 15^{gr} orpiment. — 14. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 16. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 18. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 20. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 22. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 24. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 26. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 28. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — Du 28 au 9 juin, 0 trypan. A. G. 0. L'animal est suffisamment rétabli pour être remis dans le rang, quoique encore anémié.

Le 23, M. Tricard, vétérinaire aux spahis, partant en Mauritanie, nous dit que l'escadron manquant de chevaux, Palefroi serait emmené. Nous eussions préféré que cet animal fût laissé en observation à Saint-Louis, comme les n°s 3 et 4, nous ne pûmes que nous incliner devant cette décision. L'animal part le 24; à cette date, 0 trypan. A. G. 0. Il est abattu le 28 juillet à Boutilimit, en l'absence du vétérinaire, après avoir fait 400 kilomètres dans de très mauvaises conditions de nourriture et d'entretien. Le registre d'abatage du corps porte la note suivante : « coup de pied difficilement curable. Anémie profonde due à une affection antérieure pour laquelle le cheval a été traité (trypanosomiase) ».

Cheval n° 3. — Cheval entier, 4 ans, récemment acheté à Koulikoro

pour la remonte de l'escadron. *L'état général est mauvais*, la démarche discordante, le train postérieur, faible. Dans le sang, trypanosomes très rares, en forme de têtards et peu mobiles. Ces parasites sont inoculés positivement au chien. Sur les préparations colorées, on distingue nettement deux formes, et dans aucune on n'observe de flagelle libre.

L'infection est due à *Tr. dimorphon*.

22 mai. Trypan. très rares. 5^{gr} atoxyl. — 24. Trypan. très rares. 15^{gr} orpiment. — 25. Trypan. rares. — 26. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 28. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 30. 0 trypan. A. G. très légère. 5^{gr} atoxyl. — 1^{er} juin. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 3. 0 trypan. A. G. 0. 5^{gr} atoxyl. — 5. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 10 jours de repos et second traitement. — 17. 0 trypan. 15^{gr} orpiment. — 19. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 24. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 26. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 29. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 1^{er} juillet. 0 trypan. A. G. 0. 5^{gr} atoxyl. — 3. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 5. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 7. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 11. 0 trypan. A. G. 0. 5^{gr} atoxyl. — 13. 0 trypan. 25^{gr} orpiment (1). — Du 13 juillet au 29 septembre, 0 trypan. A. G. 0. — L'animal est resté assez longtemps maigre, environ un mois 1/2, après la fin du traitement. Actuellement, il a engraisé, il fait depuis deux mois le service du vagemestre. L'appétit est bon, le poil brillant, l'allure régulière.

Cheval n° 4. — Cheval entier, 5 ans, récemment acheté à Koulikoro pour la remonte de l'escadron. L'animal est en assez bon état, quoique la démarche soit un peu discordante. Dans le sang, trypanosomes très rares, offrant les mêmes caractères morphologiques et d'inoculation que dans l'observation précédente : *Tr. dimorphon*.

22 mai. Trypan, très rares. A. G. notable. 5^{gr} atoxyl. — 24. Trypan. très rares. 15^{gr} orpiment. — 25. 0 trypan. A. G. forte. — 26. 0 trypan. A. G. forte. 5^{gr} atoxyl. — 28. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 30. 0 trypan. A. G. légère. 5^{gr} atoxyl. — 1^{er} juin. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 3. 0 trypan. A. G. 0. 5^{gr} atoxyl. — 5. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 12 jours de repos et second traitement. — 19. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 24. 0 trypan. 15^{gr} orpiment. — 26. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 29. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 1^{er} juillet. 0 trypan. A. G. 0. 5^{gr} atoxyl. — 3. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 5. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 7. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 11. 0 trypan. 5^{gr} atoxyl. — 13. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — L'animal est en excellent état, quoique un peu maigre. — Du 13 juillet au 29 septembre, 0 trypan. A. G. 0. — Ce cheval a repris son embonpoint normal. Il sert de monture à l'un de nous depuis la fin de son traitement, et il fait chaque matin un travail de dressage assez dur. Il peut être considéré comme guéri.

(1) Il a été administré par erreur à ce cheval 1 dose d'orpiment de plus que n'en comportait notre programme.

2^e Traitement par l'orpiment seul

Cheval n° 1. — 9 ans, de la race des chevaux dits Baiards, qui représente la race autochtone dans le Bas-Sénégal. Cet animal nous a été confié pour être traité, par M. Borde, négociant à Tivaouane. L'état général est excellent, la démarche ne présente rien d'anormal, mais l'animal est mou. Les boulets sont légèrement engorgés. Le scrotum ne présente pas d'œdème. Les conjonctives sont jaunâtres, légèrement injectées, sans pétéchiies. Ce cheval a séjourné pendant quelque temps à Nianing où son propriétaire pense qu'il a contracté, comme le suivant, la maladie des chevaux, dite maladie de Nianing (1). L'examen du sang permet de constater la présence d'un grand nombre de trypanosomes, présentant les caractères de *Tr. Casalboui*. L'inoculation est positive chez le mouton, elle reste négative chez le chien.

5 juin. Trypan. nombreux. 15^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 10. 0 trypan. 20^{gr} orpiment. — 13. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 17. 0 trypan. A. G. légère. 25^{gr} orpiment. — 20. 0 trypan. A. G. très légère, 25^{gr} orpiment. — 23. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — Huit jours de repos et second traitement. — 1^{er} juillet. 0 trypan. A. G. 0. 15^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 16. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 19. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — Du 20 juillet au 29 août, 0 trypan. A. G. 0. — Pendant cette période, le cheval a été attelé tous les matins à une voiture à quatre roues et a assuré le service du village de ségrégation de la maladie du sommeil, distant d'environ 2 kilomètres de la ville européenne. Le 29, il est renvoyé à son propriétaire qui le réclame. Le 26 septembre, nous nous rendons à Tivaouane, pour l'examiner de nouveau. 0 trypan. A. G. 0. L'état général est excellent, nous trouvons même que le cheval ne travaille pas assez et qu'il est trop gras.

Cheval n° 2. — 12 ans. Baiard, appartenant au même propriétaire que le précédent. Maigreur très accentuée, ventre levretté, côtes saillantes. Léger engorgement des boulets. Pas d'œdème scrotal. Les conjonctives sont jaunâtres et présentent de nombreuses pétéchiies. Le rein est sensible, la démarche pénible et discordante, l'animal titube presque à chaque pas. Le sang très pauvre en globules rouges, présente une agglomération notable, et renferme une grande quantité de trypanosomes dont

(1) Des renseignements récents nous donnent cependant à penser que la Souma pourrait exister dans les environs même de Tivaouane et que les tsétsé de la région des Miages pourraient étendre jusque-là leur domaine.

Les caractères morphologiques sont ceux de *Tr. Cazalboui*. L'inoculation, positive chez le mouton, reste négative chez le chien.

3 juin. Trypan. nombreux. A. G. notable. 15^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — Diarrhée intense, selles liquides, vert-jaunâtre au début, et ensuite de la couleur de l'orpiment. L'animal a l'air très abattu et refuse toute nourriture. — 9. La diarrhée a presque complètement disparu, le cheval mange un peu et boit beaucoup dans la journée. — 10. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 11. La diarrhée reparait, aussi intense que les jours précédents, avec des troubles généraux identiques. — 13. La diarrhée ayant presque entièrement disparu, on fait une injection de 5^{gr} d'atoxyl afin de ménager la susceptibilité intestinale. — 16. Les conjonctives sont moins congestionnées, les pétéchies ont disparu, ainsi que l'engorgement des membres. L'appétit est bon et l'état général satisfaisant. — 18. 0 trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 20. 0 trypan.; pas de troubles intestinaux. 25^{gr} orpiment. — 23. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — Huit jours de repos, second traitement. — 1^{er} juillet. 0 trypan. A. G. 0. 15^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 10 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 13. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 16. 0 trypan. 25^{gr} orpiment. — 19. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — Du 20 juillet au 29 août. 0 trypan. A. G. 0. — Le cheval est resté longtemps maigre, il n'a commencé à engraisser que vers le 10 août, il est vrai que son état général était mauvais au début. Le 29 août, l'animal est renvoyé à son propriétaire qui le réclame. Le 26 septembre, nous nous rendons à Tivaouane où nous le trouvons en parfait état de santé et très en forme. 0 trypan. A. G. 0.

Pour résumer les résultats obtenus par le traitement mixte, le cheval n° 1, atteint de Souma, trois mois et demi après la fin du traitement, ne présentait plus aucun symptôme de trypanosomiase.

Le cheval n° 2 a été malheureusement abattu deux mois après la fin de son traitement. L'animal était dans un mauvais état général quand le traitement a commencé, et il aurait eu besoin d'une convalescence d'au moins deux mois pour pouvoir faire le service très pénible auquel il a été soumis. Quoique nous ne puissions nous prononcer dans ce seul cas de M Bori, il est probable qu'il n'avait pas rechuté, le procès-verbal d'abatage ne faisant mention d'aucuns des symptômes de la M' Bori, bien connus dans la région, tels que : engorgement des boulets, œdème du scrotum, faiblesse de l'arrière-main.

Les chevaux 3 et 4, atteints de trypanosomiasse des chevaux de Gambie (*Tr. dimorphon*), ne présentaient plus aucun des symptômes de trypanosomiasse deux mois et demi après la cessation du traitement; le n° 3, dont l'état général était mauvais au début, n'a commencé à engraisser qu'un mois et demi après la cessation de la médication, tandis que le n° 4 a pu faire du service, même avant la fin de son traitement.

2° Pour les chevaux traités par l'orpiment seul, les chevaux 1 et 2 ne présentaient aucun symptôme de trypanosomiasse deux mois et demi après la fin du traitement. Le n° 2, plus atteint, a fait une convalescence d'un mois environ, tandis que le n° 1 a pu être employé, même avant la fin du traitement.

CONCLUSIONS

1° Deux trypanosomiasés différentes : Souma (*Tr. Casal-boui*) et Trypanosomiasse des chevaux de Gambie (*Tr. dimorphon*), ont pu être traitées avec succès chez les chevaux, par la médication mixte orpiment et atoxyl. Il est probable que la M Bori est également curable par ce traitement, malgré que l'animal que nous croyons avoir guéri ait été abattu dans des conditions qui ne permettent pas de l'affirmer.

2° Deux chevaux atteints de Souma ont été traités avec succès par l'orpiment seul. Nous croyons que ce médicament, d'un prix peu élevé, suffira pour traiter les trypanosomiasés des chevaux, sans avoir recours à l'atoxyl, dont la valeur, par rapport aux doses qu'il faut administrer, rendrait la médication beaucoup plus onéreuse. Les expériences que nous sommes en train de poursuivre avec l'orpiment seul sur un cheval et un dromadaire atteints de M Bori, et sur un cheval atteint de Baleri (*Tr. Pecaudi*), et qui feront l'objet d'un prochain mémoire, nous apprendront si la médication par l'orpiment seul est généralement applicable à toutes les trypanosomiasés des chevaux.

Les animaux qui semblent très gravement atteints sont encore le plus souvent curables, mais ils font une convalescence assez

longue qui peut durer deux mois. Au contraire, les chevaux, dont l'état général n'a pas encore beaucoup souffert, peuvent déjà fournir, aussitôt après la première moitié du traitement, un travail normal (1).

(1) MM. Thiroux et Teppaz ont publié, au mois d'octobre 1908, une note préliminaire sur la question qui fait l'objet du présent travail (*Acad. des Sc.*, 1908) et, postérieurement à la rédaction de ce travail, une note sur le traitement de la Baleri par l'orpiment (*Acad. des Sc.*, 11 janvier 1909).

Note sur l'histoire, pendant un an, du trachome dans une agglomération algérienne.

PAR LE D^r EDMOND SERGENT

La conjonctivite granuleuse est, avec le paludisme et l'alcoolisme, une des trois affections les plus répandues en Algérie. Pour lui opposer des mesures prophylactiques rationnelles, il est d'abord nécessaire de se faire une idée précise de ses conditions épidémiologiques.

Nous avons choisi dans ce but une agglomération européenne, où nous avons examiné à plusieurs reprises les conjonctives de tous les habitants dans l'espace d'un an : le 3 juin, le 2 septembre, le 20 novembre 1907 et le 3 juin 1908 (1).

CONDITIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES GÉNÉRALES

Lieu. — Grande plaine basse, alluvionnaire, marécageuse, formée par la basse vallée de la Macta et de l'Habra (Oranie). Irrigations avec une eau légèrement saumâtre. Climat méditerranéen. Température très chaude en été. Culture de la vigne et des orangers. Elevage du bétail. On remarque la pullulation intense des Moustiques (*Anopheles maculipennis*, et une espèce du genre *Grahamia*), et des Mouches. (En septembre, j'ai compté 60 Mouches, suçant les humeurs sur le visage d'un enfant trachomateux endormi, de 10 mois [famille Ca. à Ferme-Blanche]).

Travail. — Les personnes observées appartiennent presque toutes à la classe ouvrière agricole : presque toutes sont espagnoles, quelques-unes françaises. La population est en général fort misérable.

Mode d'existence. — L'habitation est bien construite à Ferme-Blanche et aux Paddocks où l'administration fournit des logements contigus dans un grand bâtiment coupé par de simples cloisons. Les familles logées côte à côte dans ces cellules juxtaposées vivent dans une grande promiscuité (voir le plan).

(1) Je remercie vivement M. de Trégomain, sous-gouverneur du Crédit Foncier de France, pour les facilités qui m'ont été données pour cette étude.

Les habitations isolées ne sont que des huttes de torchis et de branchages, comme les gourbis indigènes.

La nourriture est très défectueuse en général: abus des crudités. L'eau de boisson provient du barrage-réservoir de Perrégaux et est filtrée grossièrement.

La vêtue des enfants laisse beaucoup à désirer.

Les pratiques de l'hygiène et même celles de la propreté la plus élémentaire sont inconnues de la majorité. Les quelques latrines construites par l'administration sont à peu près inutilisées (rapprocher ceci du très grand nombre de Mouches). On a noté l'usage fréquent d'une seule serviette de toilette pour toute une famille.

Les tableaux suivants donnent les résultats des 4 séries d'examen d'yeux pratiqués du 3 juin 1907 au 3 juin 1908: une colonne verticale est consacrée à chaque famille, les colonnes horizontales séparent les membres de la famille par âge. Des sous-colonnes verticales permettent d'indiquer l'état des yeux à l'époque de chacune des visites: la teinte noire signifie: présence du trachome; les hachures,

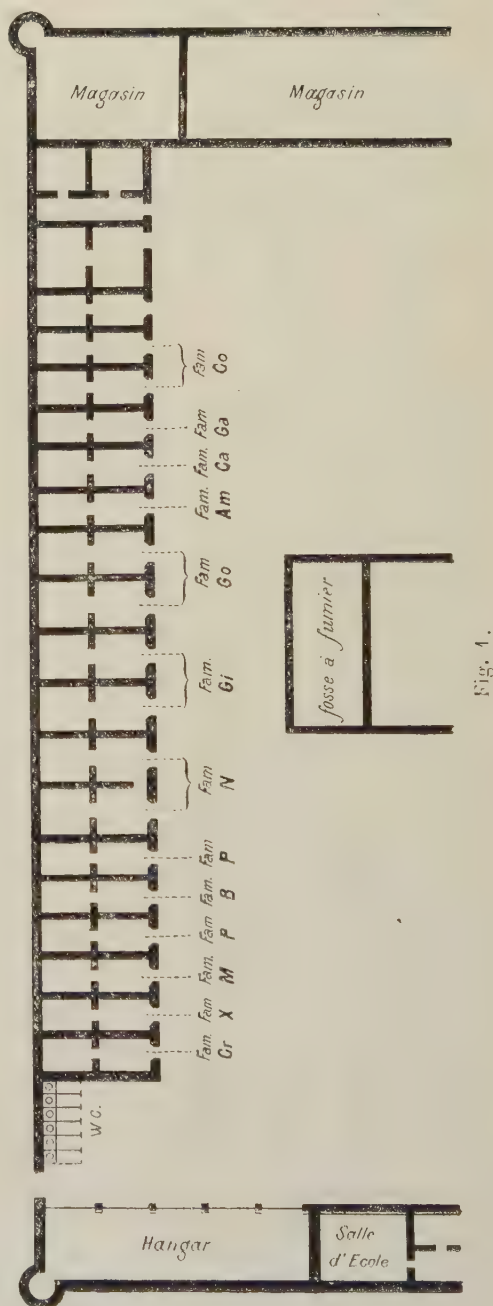


Fig. 1.

Age lors de la 1 ^{re} visite	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.	1907 08 3 Juin 30 Nov.
au dessus de 55																	
de 51 à 55																	
de 46 à 50																	
de 41 à 45																	
de 36 à 40																	
de 31 à 35																	
de 26 à 30																	
de 21 à 25																	
de 16 à 20																	
de 11 à 15																	
de 6 à 10																	
de 1 à 5																	
de 0 à 5																	
Familles	Cr	X	M	P	B	P	B	P	B	P	B	P	B	P	B	Ga	Co

■ Trachomateux ■ Indemnes

Forme-Blanche, Agglomération. — Tableau indiquant l'histoire du trachome chez chaque individu, dans chaque famille, ainsi que les rapports de voisinage entre les familles.

2. — La contamination se fait pendant l'enfance : sur 20 contaminations auxquelles nous avons assisté, 8 se sont faites pendant la première année d'existence, 3 dans la seconde année, et 3 dans la troisième, 1 dans la quatrième, 2 dans la cinquième, 1 dans la septième et 1 dans la dixième, enfin 1 seule chez un adulte, la femme *M. A.* (30 ans) aux Paddocks, dont l'infection a suivi celle de ses enfants (mari indemne).

Plusieurs enfants sont devenus granuleux dès l'âge de trois mois.

L'un des conjoints peut être trachomateux sans contaminer l'autre, même après de longues années de mariage (7 cas). Ceci est la question de la contamination entre adultes.

Il n'en est pas de même lorsqu'il s'agit de l'infection des enfants. A ce sujet, on peut dire qu'il y a des familles trachomateuses et des familles non trachomateuses : les tableaux ci-dessus montrent que 17 familles ont *tous* leurs membres trachomateux, 16 n'ont qu'une partie de leurs membres trachomateux, et 6 ont *tous* leurs membres indemnes.

Dans toutes les familles où il y a des enfants trachomateux, on trouve un des parents ou adultes de la famille infectés : nous ne relevons qu'une exception : Fam. *Bu* à Ferme-Blanche.

A signaler comme exemple de familles trachomateuses et de familles non trachomateuses le cas de la famille *M. R.* (isolée). Tous ses membres groupés : les deux parents et les cinq fils sont indemnes. La fille unique se marie dans une famille trachomateuse : nous la trouvons infectée.

3. — Un coup d'œil jeté sur les tableaux ci-dessus montre que des familles indemnes vivent depuis longtemps dans le voisinage étroit de familles infectées, parfois intercalées entre deux familles trachomateuses, sans que ce voisinage suffise à les contaminer. Elles sont de même race et mènent le même genre de vie, mais sont en général d'un niveau social un peu supérieur (agents de chemins de fer par exemple), ce qui entraîne plus de confort et plus de propreté.

4. — On ne trouve pas de différence entre l'infectabilité des familles espagnoles et celle des familles françaises. On trouve des familles réfractaires dans les deux cas.

En raison de l'opinion émise que les nègres n'ont pas le trachome, nous avons examiné 8 nègres : aucun d'eux n'était atteint bien que le trachome fût commun chez les indigènes blancs de leur entourage.

5. — Notes cliniques. Tous les cas de contamination suivis dès le début ont montré, avant l'apparition des granulations typiques, de la congestion qui peut faire penser à une phase aiguë : rougeur et tuméfaction intense de la conjonctive qui prend un aspect framboisé, mais sans écoulement. Au microscope, aucun microbe. On peut se demander si l'on est en présence d'un stade aigu du trachome, ou bien d'une inflammation banale dont la présence est nécessaire, pour permettre l'infection trachomatuse.

Un certain nombre de granuleux, surtout parmi les adultes dont les cicatrices palpébrales n'étaient pas très rétractées, n'accusent aucun trouble oculaire. Il est certain que des granuleux peuvent guérir ou au moins tolérer leurs lésions. Mais dans les mêmes familles quelques personnes ne souffrent pas de leur trachome et d'autres aboutissent rapidement aux pires complications.

Dans plusieurs cas de nouvelle infection, nous avons retrouvé dans le raclage léger de l'épithélium conjonctival non encore traité, les corps de Prowazeck.

Dans les nombreux cas de conjonctivite aiguë ou subaiguë survenus chez nos sujets au cours de notre enquête, nous avons trouvé : souvent le Diplobacille, souvent une absence totale de Bactéries, une seule fois le Bacille de Weeks.

CONCLUSIONS

Dans la localité étudiée, le trachome s'est manifesté comme une maladie familiale, qui se contracte en général dans les tout premiers mois de la vie.

Le voisinage des familles infectées, la fréquentation de l'école, n'ont pas paru exercer une influence notable sur la contamination des indemnes.

Dans la localité étudiée, le mode de transmission peut donc

être l'objet de l'hypothèse suivante : Ecarter l'idée de la contamination fréquente à distance (même proche). Ecarter l'idée de la contamination fréquente à l'école ou dans les jeux. L'infection pourrait se faire surtout au sein de la famille, dans ces milieux misérables où l'usage de la literie et des objets de toilette est commun à tous les membres. Des exceptions confirmatives peuvent se concevoir pour les cas où des voisines, femmes ou fillettes, portent et soignent un nourrisson comme la véritable mère.

L'émulsine intestinale chez les animaux supérieurs

PAR PIERRE THOMAS ET ALBERT FROUIN

I

La présence d'une émulsine dans le tube digestif des animaux supérieurs a été recherchée souvent, dans ces dernières années, mais n'a pu être démontrée, jusqu'ici, d'une façon satisfaisante. Les recherches publiées de divers côtés n'ont fourni que des résultats contradictoires, et les conclusions que l'on a voulu en tirer reposent sur des expériences insuffisantes (1).

Le dédoublement des glucosides dans l'organisme a été mis en évidence, dès l'année 1844, par Laveran et Millon (2). En administrant la salicine à des malades atteints de fièvre intermittente, ils constatèrent la présence d'aldéhyde et d'acide salicylique dans l'urine de ces malades, peu de temps après l'ingestion du glucoside. Ce dernier avait donc été hydrolysé dans l'organisme.

En 1859, Claude Bernard explique la toxicité des amandes amères en admettant que l'émulsine et l'amygdaline qu'elles renferment réagissent avec formation d'acide cyanhydrique et il vérifie que ceci a lieu, en effet, dans le corps de l'animal, si on lui fait ingérer en même temps les deux substances (3); mais il ne signale pas que l'ingestion de l'amygdaline seule puisse produire la même intoxication. Il faut attendre jusqu'en 1876 pour voir affirmer ce dernier fait par Moriggia et Ossi (4). Ces savants remarquent que l'introduction de l'amygdaline dans le tube intestinal des animaux supérieurs, et notamment des herbivores, donne lieu à un empoisonnement dû à l'acide cyanhydrique. Il y a donc un dédoublement qui a lieu principalement dans l'intestin (aussi bien dans l'intestin grêle que dans le cæcum). Le contenu intestinal dédouble, en effet, l'amygdaline comme le ferait l'émulsine.

Dans un travail publié en 1887, Grisson étudie le sort des

(1) Voir à ce sujet l'opinion de GREEN, *The soluble Ferments and Fermentation*, 2^e éd., 1901, p. 154; voir aussi ROBERT, *Lehrbuch des Intoxikationen*, 2^e éd., 1906, p. 643.

(2) LAVERAN et MILLON, *Ann. Chim. Phys.* (3), XII, 145.

(3) CLAUDE BERNARD, *Pathologie expérimentale*, 76.

(4) MORIGGIA et OSSÌ, *Atti. Acad. Lincei*, III, 1876, analysé dans *Jahresber. f. Tierchem.*, VI, 81.

glucosides dans l'organisme animal (1). Il n'observe aucun dédoublement des glucosides (amygdaline, arbutine, salicine et héliicine) sous l'action de la salive, des sécrétions gastrique et pancréatique, de la bile et de l'extrait d'intestin grêle. D'après lui, c'est seulement au cours du passage dans l'intestin que peut se faire l'hydrolyse des glucosides, et c'est aux seules bactéries qu'il faut l'attribuer. Grisson a obtenu cette hydrolyse chez les herbivores, mais non chez le chien; il attribue ce résultat à la flore microbienne, beaucoup plus développée dans le long tube intestinal des premiers que chez le dernier (2). De plus, ce savant observe que l'amygdaline ingérée en faible quantité, est résorbée tout entière au niveau de l'estomac et ne provoque pas l'empoisonnement; c'est peut-être dans ce fait que réside l'explication des divergences des auteurs touchant la toxicité de l'amygdaline.

L'hypothèse de Grisson, sur le rôle des microbes de l'intestin dans le dédoublement des glucosides, reçoit un appui sérieux du travail de Fermi et Montesano (3). Ceux-ci constatent, en effet, que l'amygdaline est complètement dédoublée par le *Bacterium coli*, hôte habituel de l'intestin, et par *B. megaterium*, espèce banale qui doit exister en abondance dans les fourrages et en général dans la nourriture des animaux. Dans quelques cas, des variétés de ces microbes n'ont pas provoqué de dédoublement de l'amygdaline; il n'en est pas moins établi que le plus grand nombre de ces variétés microbiennes produit une rapide formation d'essence d'amandes amères aux dépens du glucoside. Quant au glucose, il ne peut jamais être retrouvé, parce qu'il est vraisemblablement consommé, au fur et à mesure de son apparition, par les bactéries. Ce fait est d'une grande importance, comme nous allons le voir.

En 1896, deux ans après la publication du travail de Fermi et Montesano, Gérard a recherché l'action des microbes de l'estomac sur l'amygdaline (4). Ilensemence simplement un peu du contenu stomacal du lapin dans du bouillon, et fait agir cette culture sur l'amygdaline. Il obtient exactement les mêmes

(1) GRISSON, *Ueber das Verhalten der Glykoside im Tierkörper*, diss. inaug. Rostock, 1887, analysé dans *Jahresber. f. Tierchem.*, XVII, 91.

(2) Cité dans Kobert, *loc. cit.*, p. 436.

(3) FERMI et MONTESANO, *Centralbl. f. Bakteriol.*, XV, 722 (1894).

(4) E. GÉRARD, *C. R. Soc. Biologie*, XLVIII, 44.

résultats que les auteurs italiens, c'est-à-dire la formation d'acide cyanhydrique, et constate comme eux l'absence du sucre. En même temps, Gérard étudie l'action des macérations de pancréas et d'intestin grêle (jéjunum et iléon) du lapin sur le glucoside. Il trouve que le pancréas est sans action, mais que l'intestin donne lieu à la formation d'acide cyanhydrique; là encore, le glucose fait défaut. Ce dernier fait rend presque certaine l'ingérence des microbes dans ces expériences : les fragments d'intestin, placés pendant vingt-quatre heures à l'étuve à 37°, ont pu être le siège d'une active prolifération microbienne.

Il est donc impossible de souscrire à l'opinion de Hérissé, qui, s'appuyant sur ces premiers résultats de Gérard, écrit quelques années plus tard : « la présence de l'émulsine a été nettement établie dans l'organisme animal » (1). C'est seulement en 1901 que Gérard paraît avoir démontré la présence d'une émulsine dans la macération aqueuse de rein et de foie (2).

Nous avons donc le droit de dire que la question de la présence d'une émulsine dans le tube digestif n'était pas résolue lorsque nous avons commencé nos expériences (avril 1906).

II

Cette question ne pouvait être tranchée définitivement qu'à la condition d'éviter les causes d'erreur qui jettent la suspicion sur les travaux précédents. Il fallait donc employer des sécrétions *normales* et les faire agir sur les glucosides dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Le chien convient parfaitement lorsqu'on veut obtenir les divers sucs digestifs à l'état de pureté et en quantité suffisante pour l'expérimentation. A un autre point de vue, il convient mieux que les herbivores pour une telle recherche, parce que son alimentation ne comporte pas de tissus végétaux non transformés. On est ainsi assuré de ne pas introduire dans l'organisme la diastase cherchée, l'émulsine, dont on connaît la très grande diffusion dans le règne végétal, et on ne risque pas de la retrouver accidentellement dans les sucs digestifs, où elle pourrait peut-être passer; on la retrouve, en effet, dans le suc pancréatique, lorsqu'elle est introduite dans la circulation (3).

(1) H. HÉRISSEY, *Recherches sur l'Emulsine*, thèse pharm., Paris, 1899.

(2) E. GÉRARD, *C. R. Soc. Biologie*, LIII, 99.

(3) STODEL, *C. R. Soc. Biologie*, LXI, 524 (1906).

Nous avons utilisé de la salive provenant des glandes sous maxillaires et parotides, du suc gastrique, du suc pancréatique et du suc intestinal.

La salive a été obtenue par cathétérisme des conduits salivaires, chez des chiens à fistule permanente. Elle était complètement aseptique.

Le suc gastrique provenait d'animaux à estomac séquestré, suivant la technique indiquée par l'un de nous (1); il a été employé sans filtration préalable.

Quant au suc pancréatique, il a été obtenu d'un chien à fistule pancréatique permanente, ou d'animaux à fistule temporaire, dont on recueillait la sécrétion après injection de sécrétine. Ce suc étant rigoureusement stérile (2) n'a pas été filtré avant l'emploi.

Enfin, le suc intestinal a été obtenu de chiens munis d'une fistule de Thiry, intéressant soit le duodénum, soit le jéjunum, soit l'iléon. Ce suc est toujours souillé de nombreuses bactéries et renferme également un grand nombre de cellules provenant de la muqueuse intestinale, sauf dans des cas particuliers. Nous entrerons plus loin dans le détail de son emploi.

Avant de rechercher la présence de l'émulsine dans les diverses parties du tube digestif, il nous a paru utile d'examiner comment une émulsine d'origine végétale se comporte vis-à-vis des glucosides, lorsqu'elle se trouve introduite dans le corps de l'animal. En d'autres termes, nous nous sommes demandés quelle influence les divers sucs digestifs, mélangés à l'émulsine, peuvent exercer sur son activité diastasique. Les expériences ont été conduites de la manière suivante, que nous indiquons une fois pour toutes.

Les glucosides, en solution à 1 0/0, sont répartis dans des tubes à essai, à raison de 10 c. c. de solution pour chaque tube; on stérilise à l'autoclave, et, après refroidissement, on introduit, avec les précautions habituelles, les solutions actives où les sucs digestifs, de manière à éviter toute contamination. Après un séjour d'une durée convenable au thermostat, réglé à 40°, le liquide est déféqué au moyen du nitrate mercurique : on filtre, on neutralise et on enlève l'excès de mercure par agitation avec la poudre de zinc. Le liquide filtré peut servir au dosage du glucose au moyen de la liqueur de Fehling. Nous avons, en effet,

(1) A. FROUIN, *C. R. Soc. Biologie*, LI, 397 (1899).

(2) A. FROUIN, *Arch. Internat. Physiol.*, VI, 253 (1908).

adopté toujours le dosage du sucre réducteur formé comme mesure de l'action diastasique étudiée. Des témoins contenant la solution diastasique bouillie servaient de termes de comparaison. Ajoutons enfin qu'après chaque expérience, le contrôle de l'asepsie était fait par l'examen au microscope et l'ensemencement du contenu des tubes sur les milieux usuels.

Pour étudier l'action des suc digestifs sur l'activité de l'émulsine, nous avons préparé une solution à 1 0/0 d'émulsine d'amandes (préparation très active, obtenue par précipitation à l'alcool); cette solution, préalablement filtrée à la bougie, a été ajoutée à raison de 0 c. c. 5 pour chaque tube de 10 c. c. de solution de glucoside à 1 0/0. On introduisait ensuite la quantité convenable du suc digestif étudié.

Voici quelques résultats expérimentaux :

Expérience IV. — 10 c. c. amygdaline à 1 0/0, avec 0 c. c. 5 d'émulsine à 1 0/0 et 1 c. c. de chaque sécrétion. Séjour de 4 heures à 40°.

	Glucose.
Témoin.....	0 036
+ 1 c. c. salive (sous maxillaire).....	0,030
— 1 c. c. suc gastrique.....	0 000
— 1 c. c. suc pancréatique.....	0 007
+ 1 c. c. suc intestinal (1).....	0 032

Expérience V. — 10 c. c. salicine à 1 0/0, avec 0 c. c. 5 d'émulsine à 1 0/0; séjour de 4 heures à 40°.

	Glucose.
Témoin.....	0,012
+ 1 c. c. salive.....	0,010
— 1 c. c. suc gastrique.....	0,000
— 1 c. c. suc pancréatique.....	traces
+ 1 c. c. suc intestinal.....	0,009

Expérience VII. — 10 c. c. amygdaline à 1 0/0 avec 0 c. c. 5 d'émulsine à 1 0/0. Quantités décroissantes de suc gastrique. Séjour de 4 heures à 40°.

	Glucose.
Témoin.....	0,036
1 c. c. suc gastrique (1/10).....	0
— 0 c. c. 5 — — (1/20).....	0
— 0 c. c. 2 — — (1/50).....	0
— 0 c. c. 1 — — (1/100).....	0
— 0 c. c. 05 — — (1/200).....	0

Ces expériences, répétées avec des quantités variables et des sécrétions d'origines diverses, ont toujours donné des résultats du même ordre.

(1) Suc intestinal trouble, centrifugé et filtré à la bougie Berkefeld.

Il est facile d'en tirer la conclusion générale suivante : toutes les sécrétions étudiées exercent une action empêchante sur l'activité de l'émulsine d'amandes. Cette action est particulièrement énergique avec le suc gastrique, car il suffit de 1/200 de ce liquide pour paralyser complètement l'émulsine. Elle est encore très intense avec le suc pancréatique, beaucoup moins accusée avec le suc intestinal et la salive. Nous avons reconnu que le sérum sanguin exerce également une action empêchante sur l'émulsine (1), et ce dernier fait a été ensuite confirmé par Stodel (2).

Ce premier point étant établi, nous avons recherché si les liquides digestifs énumérés plus haut possèdent par eux-mêmes une activité sur les glucosides. En admettant une analogie de propriétés entre les émulsines d'origine végétale et d'origine animale, on pouvait s'attendre à trouver les sucs gastrique et pancréatique dépourvus de toute action émulsive; cette hypothèse a été pleinement vérifiée par l'expérience. Il en est de même pour la salive et le suc intestinal, lorsque celui-ci a été rapidement obtenu, recueilli dans des tubes entourés de glace, centrifugé aussitôt, et enfin filtré à la bougie Berkefeld.

Toutes ces sécrétions, introduites avec les précautions habituelles d'asepsie, dans des solutions stérilisées d'amygdaline ou de salicine, ne donnent lieu à aucune formation de sucre, après un séjour de 24 heures à la température de 40°. Au bout de ce temps les glucosides étaient restés inaltérés dans tous les tubes, à l'exception de deux ou trois, où une culture s'était produite et qui manifestaient un dédoublement plus ou moins complet. Par conséquent, nous sommes fondés à admettre que les divers liquides digestifs étudiés, obtenus à l'état pur, n'exercent aucune action sur l'amygdaline et la salicine, même après un contact de 24 heures.

Cette proposition, absolument vraie lorsqu'il s'agit du suc intestinal centrifugé immédiatement après sa récolte et filtré ensuite, ne l'est plus si on emploie du suc intestinal en nature; dans ce cas, il y a un dédoublement des glucosides, et ce dédoublement paraît d'autant plus énergique que le suc a été conservé plus longtemps avant l'emploi.

Or, le suc intestinal, tel qu'il s'écoule de l'anse isolée, est

(1) A. FROUIN et P. THOMAS., *C. R. Soc. Biologie*, IX, 1039.

(2) STODEL, *C. R. Soc. Biologie*, LXI, 690.

toujours riche en bactéries et contient beaucoup de cellules provenant de la desquamation de l'épithélium. Il fallait donc rechercher auxquels de ces éléments figurés était imputable l'hydrolyse des glucosides.

Le fait que l'activité du suc intestinal total augmente avec la durée du séjour à la glacière ne peut trancher la question : en effet, le suc intestinal contient des espèces anaérobies réductrices qui continuent à agir et même à proliférer aux basses températures de la glacière. Ce qui paraît plus probant et de nature à faire exclure l'action microbienne, c'est que le glucose ne disparaît pas lors du dédoublement par le suc intestinal.

Ayant observé que dans les deux ou trois premières heures qui suivent chaque repas le suc intestinal s'écoule de l'anse isolée le plus souvent tout à fait limpide, nous avons soumis ce suc clair à la centrifugation, pour en éliminer les quelques cellules qu'il renferme, puis nous l'avons fait agir (sans filtration à la bougie) sur divers glucosides (amygdaline, arbutine, salicine). Ce suc s'est toujours montré inactif, ce qui confirme notre hypothèse sur le rôle des éléments figurés.

D'autre part, nous avons fait les expériences suivantes :

Expérience XVI. — Une certaine quantité de suc intestinal (riche en cellules) est divisée en deux parties. L'une est immédiatement centrifugée et donne un liquide clair A qui est filtré à la bougie. Le dépôt de centrifugation est délayé dans l'eau salée à 9 grammes par litre, et abandonné à la macération pendant 15 heures, à la glacière. La macération centrifugée fournit un liquide B qui est filtré également à la bougie. Enfin, la seconde partie du suc intestinal primitif a été abandonnée pendant 15 heures à la glacière, puis centrifugée et le liquide obtenu C a été filtré. Ces divers liquides ont été ajoutés dans la proportion de 1 c. c. pour 10 c. c. de solution d'amygdaline à 1 0/0, et le mélange abandonné 5 heures au thermostat à 40°. On a dosé le glucose formé.

	Glucose.
A (suc centrifugé aussitôt).....	0,000
B (macération des cellules du dépôt).....	0,014
C (suc centrifugé après conservation prolongée).....	0,018

Expérience XVII. — Le dépôt provenant de la centrifugation du suc intestinal, riche en cellules, est délayé dans l'eau physiologique et abandonné à la glacière. On prélève une partie

du mélange après 24 heures et 48 heures de macération; on centrifuge, et on fait agir le liquide clair (sans filtrer) sur l'amygdaline.

Durée : 15 heures, à la température de 40°.

	Glucose.
Macération de 24 heures.....	0,036
— 48 —	0,066

Les expériences faites avec la salicine ont donné des résultats comparables.

Deux faits intéressants ressortent de ces expériences :

Le premier, c'est que le dépôt de cellules obtenu par centrifugation abandonne à l'eau, par simple macération, une partie de l'émulsine qu'il renferme : or, jusqu'ici, on n'a pu extraire, par aucun moyen, l'émulsine des bactéries (Cf. Fermi et Montesano, *loc. cit.*). De plus, il apparaît que ces macérations, non stérilisées par filtration à la bougie, ont pu dédoubler énergiquement l'amygdaline; leur activité est d'autant plus grande que la durée de macération est plus longue, et, enfin, le glucose formé dans l'hydrolyse se retrouve, même après un séjour de 15 heures au thermostat. Nous avons déjà insisté sur ce fait, que dans l'hydrolyse bactérienne des glucosides (Cf. expériences de Fermi et Montesano, Gérard) on ne retrouve jamais le glucose formé.

On doit donc admettre que les cellules épithéliales de l'intestin interviennent seules dans nos expériences. Nous avons réussi à le démontrer définitivement, en expérimentant avec le contenu intestinal stérile du fœtus. Le méconium renferme, avec de la bile, une quantité de cellules provenant de la muqueuse intestinale. Nous l'avons prélevé aseptiquement sur des fœtus de chien extraits de l'utérus de la mère; le méconium délayé dans un peu d'eau stérile, a été mis en contact avec des solutions à 2 0/0 de divers glucosides. Voici les résultats obtenus. :

Expérience XX. — Durée : 15 heures, à 40°.

	GLUCOSE	
	Trouvé.	Calculé pour le dédoublement total.
Amygdaline	0,414	0,149
Salicine.....	0,080	0,125
Arbutine	0,048	0,132

L'odeur d'essence d'amandes amères était déjà perceptible

au bout d'une heure à une heure et demie dans les tubes contenant l'amygdaline. La démonstration du rôle des éléments cellulaires de l'intestin dans le dédoublement des glucosides, nous paraît donc faite (1).

Après la publication de nos recherches sur l'action empêchante des divers sucs digestifs vis-à-vis de l'émulsine, Guignard a fait paraître une remarquable étude sur *Phaseolus lunatus*, dans laquelle se trouve un paragraphe consacré à l'action des ferments du tube digestif sur la phaséolunatine (2). Il trouve que le suc gastrique est sans action sur le glucoside, mais n'empêche pas l'action de l'émulsine de haricot; le suc pancréatique pur est également sans action, tandis que la pancréatine commerciale dédouble la phaséolunatine; ce dernier résultat est obtenu également avec une préparation sèche de muqueuse intestinale. Enfin, cette préparation intestinale a une action beaucoup plus considérable en présence de pancréatine ou de suc pancréatique.

Il confirme donc nos résultats sur l'inactivité du suc pancréatique, mais se trouve en désaccord avec nous, relativement au suc gastrique. Cette divergence s'explique par le fait que le « suc gastrique » de Hepp (3), employé par Guignard, ne renferme ni pepsine, ni acide chlorhydrique; on ne peut donc le comparer au suc gastrique normal. Quant au dédoublement sous l'influence de la pancréatine ou de l'extrait intestinal, il ne nous paraît pas probant pour deux raisons.

La première, c'est que Guignard n'a pris, pour éviter l'action des bactéries, — qui existaient certainement dans les poudres employées, et qui pouvaient se développer abondamment par un séjour de 24 heures à l'étuve à 37°, — que la précaution d'ajouter quelques gouttes de toluène à la surface du liquide, ce qui est tout à fait insuffisant dans la plupart des cas.

Enfin, la seconde, signalée par Guignard lui-même (4), c'est que les produits qu'il a employés ne correspondent pas à des sécrétions physiologiques, et que leur emploi ne peut comporter de résultats certains.

A la même époque, Gonnermann a publié un long travail,

(1) A. FROUIN et P. THOMAS, *C. R. Soc. Biologie*, LXII, 227 (février 1907).

(2) L. GUIGNARD, *Bull. Sciences Pharmacol.* XIII, 412 (août 1906).

(3) M. HEPP, *C. R. Soc. Biologie*, LIX, 662 (1905).

(4) GUIGNARD, *Loc. cit.*, 415.

où il a étudié l'action de la pepsine, de la pancréatine et de la trypsine sur l'arbutine et l'amygdaline (1). Il ne donne aucune indication sur l'origine de ses préparations diastasiques, qu'il a vraisemblablement trouvées dans le commerce; aussi croyons-nous ne pas devoir insister sur ses résultats. Gonnermann trouve que la pepsine et la pancréatine sont sans aucune action sur les glucosides; quant à sa préparation de trypsine, elle dédoublait l'amygdaline après un séjour de 48 heures à 37°, car l'odeur d'essence d'amandes amères était perceptible; d'après lui, les bactéries n'interviennent pas dans le dédoublement (?).

Il était intéressant de vérifier si l'activation de l'extrait intestinal par le suc pancréatique, signalée par Guignard, s'appliquait à l'émulsine intestinale. Nous avons fait un certain nombre d'expériences dans ce but et nous avons toujours obtenu un résultat négatif. Il nous paraît au contraire que le suc pancréatique exerce, vis-à-vis de l'émulsine intestinale, la même action empêchante que par rapport à l'émulsine végétale.

Le sérum sanguin, qui est également empêchant vis-à-vis de cette dernière, exerce une action analogue vis-à-vis de la diastase des cellules intestinales. Cette action paraît liée à la présence de substances diffusibles, car le sérum dialysé n'est plus empêchant.

Depuis la publication des principaux résultats de cette recherche, Kaoru Omi a soutenu, dans un travail sur le sort de la salicine dans l'organisme, qu'il n'existe pas trace d'émulsine dans le tube intestinal (2).

D'après lui, si la salicine est dédoublée dans l'intestin, ce ne peut être que par les bactéries. Il trouve dans certains organes, chez les herbivores, une diastase dédoublant les glucosides, et, en particulier, la salicine; cette diastase n'existe pas ou seulement en faible quantité chez les carnivores. C'est la reproduction pure et simple des résultats trouvés par Grisson.

Tout récemment, à propos d'une recherche sur le rôle du pancréas, K. Omi rappelle ses précédentes conclusions et y insiste de nouveau (3).

N'ayant eu sous les yeux qu'un résumé de son travail, il

(1) GONNERMANN *Archiv. f. d. ges. Physiol.*, CXIII, 182 (juillet 1906).

(2) K. OMI, *Das Verhalten des Salizins im tierischen Organismus*, Dissert. inaug. Breslau, 1907, analysée dans *Biochem. Centralbl.*, VI, 871.

(3) K. OMI, *Bioch. Zeitschrift*, X, 258 (mai 1908).

ne nous est pas possible de discuter ses expériences, et nous devons nous borner à affirmer qu'il se trompe en niant l'existence d'une émulsine intestinale.

CONCLUSIONS

En résumé, nous avons montré que les glucosides peuvent être dédoublés dans le tube digestif des animaux supérieurs par une émulsine, qui existe dans les cellules de l'épithélium intestinal. Cette émulsine ne se trouve pas dans les diverses sécrétions, salive, sucs gastrique, pancréatique et intestinal; elle n'est pas d'origine microbienne et se trouve abondamment dans l'intestin stérile du fœtus. Cette diastase passe assez facilement en solution par macération des éléments cellulaires.

La démonstration de l'existence d'une émulsine dans le tube intestinal des animaux supérieurs est donc maintenant complète.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.



